N° d'Ordre : 4.

THÈSES

présentées

à la FACULTÉ des SCIENCES de l'UNIVERSITÉ de BESANÇON

pour obtenir

le GRADE de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Jean RIPPLINGER

Licencié ès-Sciences

Chef de travaux à la Faculté des Sciences de

BESANÇON

1re THESE. — Contribution a l'étude de la Physiologie du cœur et de son innervation extrinsèque chez l'Escargot (*Helix pomatia*).

2me THESE. — Proposition donnée par la Faculté,

soutenues le 6 Mai 1957 devant la Commission d'examen

Jury : MM. PP. GRASSÉ, *Président*
A. JULLIEN
A. TRONCHET } *examinateurs*

N° D'ORDRE : 4.

THÈSES

présentées

à la FACULTÉ des SCIENCES de l'UNIVERSITÉ de BESANÇON

pour obtenir

le GRADE de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Jean RIPPLINGER

Licencié ès-Sciences

Chef de travaux à la Faculté des Sciences de

BESANÇON

1re THESE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA PHYSIOLOGIE DU CŒUR ET DE SON INNERVATION EXTRINSÈQUE CHEZ L'ESCARGOT (*Helix pomatia*).

2me THESE. — PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ,

soutenues le 6 MAI 1957 devant la Commission d'examen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Jury : MM. PP. GRASSÉ, *Président*
A. JULLIEN
A. TRONCHET *examinateurs*

UNIVERSITÉ DE BESANÇON
FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen Honoraire : M. L. GLANGEAUD, ✻, O. ❦.

Professeurs Honoraires : MM. JOANNIS, O. ❦.
TOURNEUX, O. ✻, O. ❦.
TRILLAT, ✻, O. ❦.
VINCENSINI, ✻, O. ❦.

Maître de conférences honoraire : M. GRANIER O. ❦.

Doyen : M. CHATELET, Professeur de Calcul différentiel et intégral O. ❦.

Assesseur : M. MESNAGE, Professeur de Chronométrie O. ❦.

Professeurs : MM. BAILLAUD, Astronomie, ✻, O. ❦.
DREYFUSS, Géologie et Minéralogie, ❦ A.
DUFFIEUX, Physique, O. ❦, M.A.
JACQUEMAIN, Chimie appliquée, ✻, ✠, O. ❦.
JULLIEN, Zoologie, O. ✻, ✠, O. ❦.
PERROT, Chimie Générale, O. ❦.
THIRY, Mécanique Rationnelle.
TRONCHET, Botanique, O. ❦.

Professeurs sans chaire : MM. CROISOT, Mathématiques.
QUANTIN, Botanique, ❦ A.
THÉOBALD, Géologie, ✻, ❦ A.

Maîtres de conférences : MM. CHALEAT, Chronométrie.
Mlle GAULTIER DU MARACHE, Physique.
UEBERSFELD, Physique.

Secrétaire : M. ROUQUAIROL.

Contribution à l'étude de la physiologie du cœur et de son innervation extrinsèque chez l'Escargot *(Helix pomatia)*

par RIPPLINGER, Jean

INTRODUCTION

La physiologie du cœur et de son innervation parasympathique s'est trouvée profondément modifiée par l'apparition de la théorie cholinergique de Lœwi, O., en 1921.

Jusqu'à cette date, les recherches sur l'automatisme cardiaque tentaient de préciser les phénomènes qui présidaient à la naissance de la contraction : le problème de la définition de l'état d'excitation était posé, et il semblait alors illusoire de prétendre apporter une solution relative au mode d'action des nerfs inhibiteurs sur le cœur en méconnaissant ce premier point.

Cependant, les effets d'inhibition cardiaque, observés au cours de la faradisation des nerfs afférents au cœur, avaient été analysés, de façon plus ou moins heureuse, dans les travaux antérieurs à ceux de Lœwi, O.

La systématisation du pneumogastrique des Vertébrés en plusieurs types de fibres, fonctionnellement distinctes, admet implicitement le fait que l'organe terminal, le cœur, ne constitue pas un organe homogène. Que certains auteurs aient voulu reconnaître quatre types de fibres nerveuses dans le pneumogastrique, ou que d'autres n'en aient trouvé qu'un seul, peu importe! Les arguments, théoriques, apportés par les uns et par les autres n'en démontrent pas moins que le problème du point d'action des nerfs sur le cœur faisait également l'objet des préoccupations des Physiologistes. Bien mieux, ils témoignent des divergences de vue existant au sujet d'un problème apparemment simple, celui de la structure du myocarde. Les fonctions de ce dernier ont-elles chacune un substrat anatomique distinct, ou bien la même formation cellulaire est-elle susceptible de présenter plusieurs des réactions fondamentales du myocarde?

Le programme d'étude de l'action du pneumogastrique sur le cœur étant ainsi posé (définition des états d'excitation et d'inhibition; lieu d'action des nerfs

inhibiteurs), il était tout à fait logique que le problème du mécanisme d'action du nerf sur le cœur, vînt en dernier lieu.

Les recherches de LŒWI, O. ont tenté de résoudre ce dernier point, et il semble bien que depuis les mémorables expériences de cet auteur, les problèmes initiaux de la Physiologie cardiaque aient été perdus de vue.

Traitant du mode d'action du pneumogastrique sur le myocarde, on rapporte inévitablement à la seule acétylcholine l'ensemble des effets vagaux observés; il ne semble plus faire de doutes pour personne que le cœur représente un organe homogène sur lequel le « médiateur » agit de façon uniforme. Aussi, dans ces conditions, l'éventuelle pluralité structurale du pneumogastrique n'a-t-elle plus lieu d'être!

Les vérifications de l'hypothèse de LŒWI furent nombreuses et soulevèrent des discussions passionnées. Aujourd'hui, cette théorie est considérée comme chose acquise, sans que ses défenseurs aient jamais pris la peine de la démontrer. Les arguments invoqués par ceux-ci sont empruntés à la pharmacodynamie d'une part, et à l'histochimie d'autre part.

L'atropine combat les effets des poisons muscariniques. Elle lève également l'action du pneumogastrique. Il ne semble pas du tout évident, *a priori*, qu'il faille en conclure que le pneumogastrique agit sur le myocarde par l'intermédiaire de substances de type muscarinique. La même remarque est également valable pour l'ésérine qui renforce les actions du pneumogastrique et de l'acétylcholine.

Pour que les conclusions couramment adoptées à l'endroit de ces deux alcaloïdes fussent valables, il faudrait être certain que les effets antagonistes de l'atropine et potentiateurs de l'ésérine ne se manifestent qu'en présence d'acétylcholine par exemple, ce qui n'est pas encore prouvé.

L'action des poisons sur le cœur implique une action directe sur la membrane protoplasmique des cellules cardiaques, ce qui doit fatalement entraîner une perturbation du métabolisme cellulaire. Il est difficile d'affirmer, dans ces conditions, que le mécanisme dont procède la levée de l'inhibition cardiaque, vagale ou cholinique, résulte d'un antagonisme pur entre l'atropine et l'acétylcholine. La membrane cellulaire est lésée par le toxique : l'inhibition devient impossible car les mécanismes qui contrôlaient le métabolisme cellulaire normal sont perturbés.

Quant aux méthodes de détection histochimique (sur coupes) des cholinestérases, il est difficile d'affirmer qu'elles sont électives puisqu'on ignore la nature du substrat qu'elles sont censées mettre en évidence.

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont porté en grande partie sur l'Escargot. Les résultats que nous avons obtenus chez cette espèce ont été confrontés avec ceux obtenus chez les Poissons marins et d'eau douce.

Il peut paraître paradoxal de vouloir comparer la physiologie cardiaque des Vertébrés à celle d'un Invertébré. En fait, il s'agit de comparer des phénomènes macroscopiques : les processus biochimiques qui sont à l'origine de ces derniers sont certainement très différents dans leur essence lorsqu'on passe de l'Escargot au Poisson, mais leur résultante visible, enregistrable, présente bien des similitudes

dans ces deux groupes. Les dispositifs fonctionnels rencontrés chez les êtres organisés ne sont pas illimités dans leur nombre : le dispositif de propulsion du milieu intérieur est aussi peu varié; certes, il n'est pas limité dans tous les groupes à une portion contractile définie, mais chez tous, il est constitué par des éléments musculaires synergisés dans leur contraction.

L'avantage que présentent les Invertébrés sur les Vertébrés dans l'exploration physiologique réside dans la simplicité relative des systèmes envisagés, ce qui peut permettre de trouver un fil conducteur dans le défrichement des propriétés souvent très complexes de ces systèmes lorsque l'on monte dans l'échelle zoologique.

Chez l'Escargot et chez le Poisson, l'anatomie macroscopique du cœur est extrêmement simple, quasi schématique; l'étude de la physiologie de l'innervation extrinsèque de l'organe est pratiquement inexistante : on sait que la faradisation du nerf cardiaque entraîne l'arrêt du cœur chez l'un et chez l'autre. Sur les conseils de mon Maître, M. le Professeur A. JULLIEN, j'ai entrepris l'étude de l'innervation cardiaque de l'Escargot, et de son mode d'action cholinergique éventuel, ce qui s'inscrit logiquement à la suite de ses recherches sur la production d'acétylcholine par le cœur isolé de cette même espèce. Le sujet fut des plus fertiles et nous a souvent amenés à pousser nos investigations dans le domaine de la Physiologie purement nerveuse, à discuter d'anciennes théories de structure du nerf cardio-inhibiteur, à étudier sa répartition dans le myocarde, son mode d'action sur le cœur.

Toutes ces recherches que nous avons poursuivies tant chez l'Escargot que chez les Poissons, peuvent se résumer comme suit : le nerf cardiaque est constitué de deux types de fibres fonctionnellement distinctes : les unes, chronotropes négatives, sont destinées au tissu nodal, les autres, tonotropes négatives, représentent l'innervation du myocarde banal. L'action des unes et des autres ne peut en aucune façon s'expliquer par la théorie cholinergique de LŒWI, O. Il est possible de mettre en évidence, dans les perfusats de cœur d'Escargot et de Poisson, le passage d'une substance organique, douée de propriétés biologiques particulières, identiques à celles que LŒWI, O. avait reconnues au « Vagusstoff » recueilli chez la Grenouille.

L'analyse de ce phénomène montre qu'il ne se produit qu'au cours des conditions artificielles de perfusion du cœur, et que le produit libéré dans le perfusat représente un constituant nerveux qui diffuse, à partir du réseau nerveux intracardiaque vers le milieu extérieur, lentement dans les conditions normales, rapidement au cours de la faradisation du nerf. Au niveau du myocarde, cette substance semble jouer le rôle de ferment respiratoire.

Au cours de ces recherches, nous avons également été amenés à préciser le mode d'innervation du ventricule d'Escargot. Cet organe reçoit son innervation par les deux ramifications terminales du nerf viscéral : le nerf ventriculaire et le nerf auriculaire. Les fibres tonotropes se répartissent dans la base du ventricule, tandis que les fibres chronotropes arrivent uniquement à la pointe de l'organe.

La pointe du ventricule semble représenter le centre d'initiation des contractions ventriculaires, tandis que la base, constituée presque uniquement par du myocarde banal, est le siège des manifestations toniques de l'organe.

C'est pour moi un agréable devoir d'exprimer ici toute ma gratitude à M. le Professeur JULLIEN, pour l'attention avec laquelle il a bien voulu suivre mon travail, en dépit de ses nombreuses charges; la bienveillance de ses critiques et nos discussions nombreuses furent pour moi un stimulant constant, que ce soit pour l'élaboration des recherches de Laboratoire ou l'exégèse de nos résultats expérimentaux. Il fut pour moi un guide sûr dans mon apprentissage de chercheur.

A M. le Professeur P. P. GRASSÉ, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, Membre de l'Institut, qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de ma Thèse, j'adresse l'expression de ma bien vive reconnaissance.

Je prie M. le Professeur A. TRONCHET, qui a bien voulu accepter de participer au jury de croire à mes sentiments de déférente gratitude.

Que M. le Professeur D. CORDIER, qui, en nous ouvrant si obligeamment les portes du Laboratoire de la Station de Biologie marine de Tamaris-sur-mer, nous a permis de mener à bien nos recherches sur les Poissons marins, veuille trouver ici l'assurance de mes remerciements les plus sincères.

A) ANATOMIE DU CŒUR DE L'ESCARGOT (*HELIX POMATIA*)

I. — HISTORIQUE

a) Sructure macroscopique du cœur de l'Escargot :

Les premières recherches sur l'anatomie du système circulatoire de l'Escargot remontent au milieu du siècle dernier avec les « *Observations et expériences sur la circulation chez les Mollusques* » de Milne Edwars H. (**186**). Dans ce travail, l'auteur mettait en évidence la structure lacunaire de l'appareil circulatoire des Mollusques.

En ce qui concerne la structure du cœur de ces Invertébrés, il n'y a guère de données précises et concordantes avant les travaux de Marceau, F. (**179**) qui a fait le point sur cette question.

Les plus anciennes recherches n'ont trait qu'à la morphologie macroscopique de l'organe.

C'est ainsi que Lebert (**160**), en 1850, constate que le cœur, dans ce groupe d'animaux, présente une certaine analogie, par la disposition de ses faisceaux musculaires, avec celui des Vertébrés, et note en passant l'aspect progressivement plus compact que prend le myocarde lorsqu'on passe des Lamellibranches aux Céphalopodes.

D'autres auteurs cherchent à établir une similitude de structure, soit entre les cœurs de différents types de Mollusques, soit entre les cœurs de Mollusques et de Vertébrés. C'est le cas de Bronn, H.G. et Keferstein, W. (**33**), qui constatent une architecture semblable entre les cœurs des Hétéropodes et des Prosobranches d'une part, et celui de la Grenouille d'autre part.

L'agencement et la constitution des fibres cardiaques firent l'objet d'études ultérieures.

Darwin, F. (**57**), chez l'Escargot, parlant des cellules cardiaques, les décrit, « allongées, fusiformes, étroitement superposées, et très intimement réunies les unes aux autres ».

Les autres chercheurs qui se sont intéressés à la structure de la travée myocardique chez l'Escargot, y ont reconnu le même type de fibre fusiforme, contenant un noyau situé à l'intérieur du sarcoplasme axial. Cependant, quelques auteurs mentionnent également des fibres présentant des ramifications (Leydig, F. (**163**), Chatin, J. (**51**), Vigier, P. (**252**), Weissmann, A. (**262**) et Marceau, F. (**179**).

Procédant par dissociation, sous la loupe, de lambeaux de tissus fixés et durcis par l'acide azotique à 20 %, ce dernier auteur signale qu'il n'a jamais

obtenu, au cours de ses recherches, d'éléments sous forme de fuseaux simples ou même de fureaux rameux, « car toujours, une ou plusieurs de ses branches présentaient des traces indiscutables de rupture ».

Ces cellules sont groupées en faisceaux de fibres d'assez fort diamètre et les différents faisceaux s'anastomosent en réseaux à mailles plus ou moins développées, donnant ainsi à la paroi limitant la cavité centrale un aspect spongieux, ce qui pour cet auteur, traduit une analogie de structure entre le cœur des Mollusques et celui des Poissons et des Saurophidiens.

De plus, après avoir noté que l'oreillette reste mince chez les Gastéropodes, tandis que le ventricule peut atteindre une épaisseur notable, MARCEAU, F. distingue dans ce dernier organe deux couches musculaires d'une épaisseur à peu près égale : « l'une externe, plus compacte, formée de travées à direction principalement longitudinale, et l'autre, interne, composée surtout de cordons musculaires assez volumineux, ayant en général une direction circulaire et faisant saillie dans la cavité ventriculaire ».

Enfin, ce même auteur s'est préoccupé de chercher si les travées cardiaques des Mollusques allaient s'insérer, comme chez les Vertébrés inférieurs, par des extrémités effilées, en différents points du cœur. Ses conclusions sont les suivantes : « Je n'ai jamais réussi à observer des travées terminées par des extrémités effilées ou obtuses, malgré les nombreuses dissociations que j'ai faites. Celles-ci doivent avoir en général la forme de courbes fermées, anastomosées les unes avec les autres, et former aux poches cardiaques une enveloppe constituée à peu près comme le filet d'un ballon auquel est suspendue la nacelle... Les travées qui arrivent au niveau des divers orifices se continuent sur un court trajet, soit dans la paroi des oreillettes, soit dans celle des vaisseaux qui y aboutissent ou en partent (veines branchiales ou artères). D'ailleurs, il est bon de faire remarquer que le cœur des Mollusques ne renferme point de tissus fibreux pouvant donner insertion à ces travées et que partout on trouve du tissu musculaire avec quelques rares cellules conjonctives ».

Après avoir signalé la valeur approximative des résultats obtenus par MARCEAU, F., conséquence de sa méthode de travail — reconstitution spatiale de la structure de l'organe après dissociation préalable de lambeaux de tissus — JULLIEN, A. (**116**) reprend l'étude de l'architecture du cœur de l'Escargot par une technique qui ne nécessite aucune altération de l'intégrité de l'organe. Mettant à profit l'action diastolisante des sels de magnésium et de calcium sur le cœur des Mollusques, cet auteur provoque l'arrêt et le relâchement du myocarde, qui devient ainsi facilement observable, en raison surtout de la minceur de la paroi distendue.

Le cœur de l'animal est mis à nu, après enlèvement de la coquille, par une incision longitudinale du feuillet péricardique externe. Par une petite incision pratiquée dans la paroi de l'oreillette, l'extrémité olivée d'une canule de Straub est poussée jusque dans la cavité ventriculaire en lui faisant franchir, sans déchirer les tissus, le sillon auriculo-ventriculaire. Une première ligature, posée sur le sillon auriculo-ventriculaire maintient la canule en place, tandis qu'une deuxième ligature, portant sur l'extrémité distale de l'organe (naissance de l'aorte),

supprime toute voie d'échappement aux liquides pénétrant dans la cavité ventriculaire.

La préparation (ventricule monté sur la canule) est détachée du reste de l'animal par section, en dehors des ligatures, du vaisseau efférent et du lambeau restant de l'oreillette.

L'oreillette peut être montée de façon identique sur une canule que l'on fait pénétrer dans la cavité auriculaire par une boutonnière pratiquée dans la paroi du ventricule. Bien que plus délicate à réaliser dans ce dernier cas, en raison même de la minceur des parois auriculaires, cette technique est à la portée de toute main quelque peu expérimentée.

Dans le réservoir de la canule tenue verticalement, est introduite la solution diastolisante, isotonique à l'hémolymphe, en quantité suffisante pour distendre la paroi cardiaque et la rendre transparente, conditions optimales pour une bonne observation.

Les résultats obtenus par JULLIEN, A. suivant cette méthode sont les suivants :

La paroi du ventricule « se montre constituée par une charpente à travées opaques de teinte marron clair et de grosseur variable, et dans leur intervalle, par du myocarde jaune clair très transparent ». Les travées « les plus superficielles et en même temps les plus nombreuses sont disposées de façon à constituer deux éventails inclus respectivement dans chacune des faces superficielle et profonde, et qui divergent d'un point situé au milieu de leur base »... « Toutes ces travées se divisent par dichotomie successive, diminuant de diamètre à mesure qu'elles s'éloignent de la base; elles prennent alors de ce fait, notamment dans la région apicale, l'aspect d'un fin chevelu ».

A côté de ce système superficiel, il en existe un autre, formé de travées profondes, transversales, et faisant saillie à l'intérieur de la cavité ventriculaire. « Assez serrées et disposées régulièrement dans le tiers apical, puis dans le tiers moyen où elles sont partiellement épaissies, elles se font plus rares dans le tiers supérieur. Comme les travées en éventail, elles se ramifient par dichotomie ».

L'oreillette n'a pas de structure aussi bien définie que celle du ventricule. Néanmoins, il est possible d'y reconnaître « trois points de condensation du réticulum d'où les travées semblent émaner. Deux sont localisés sur les faces superficielle et profonde, à la limite des tiers inférieur et moyen, ...le troisième au débouché de la veine pulmonaire ».

On a vu plus haut que bien des auteurs, à la suite de DARWIN, F. (**57**), avaient admis que la cellule cardiaque était fusiforme. Il est évident que dans ces conditions, la question de l'existence d'une structure syncytiale dans le cœur de l'Escargot ne se pose pas.

L'aspect de fibres plus ou moins ramifiées, présentant des traces indiscutables de rupture artificielle — comme l'a reconnu MARCEAU, F. — au contraire semble pouvoir s'accorder avec l'existence d'une telle structure.

BRONN, H.G. et KEFERSTEIN, W. (**33**) avaient déjà signalé, chez les Pulmonés, des anastomoses fréquentes au niveau des fibres musculaires. Pour ces auteurs, la structure syncytiale du myocarde de l'Escargot ne semble donc pas faire de doute.

Marceau, F. (**179**) définit la structure histologique des travées myocardiques des Mollusques de la façon suivante : « elles sont formées par des fibres musculaires d'un faible diamètre, anastomosées en un réseau très compliqué, à mailles plus ou moins allongées, mais qui est hérissé de branches aveugles plus ou moins nombreuses, de forme et de longueur variées ».

En somme, pour cet auteur, le syncytium existe, mais n'intéresse pas la totalité du myocarde. Il ne porte que sur quelques éléments cellulaires.

Morin, G. et Jullien, A. (**193**) ont tenté d'apporter quelques précisions à ce problème des rapports des fibres myocardiques entre elles chez un autre Gastéropode, *Murex trunculus*, en évitant de détruire la texture tissulaire par dilacération, comme l'avaient fait les auteurs précédents.

Des lambeaux de myocarde sont immergés, sur lame porte-objet dans une solution diastolisante de chlorure de magnésium, additionnée de 0,05 % de bleu de méthylène. Les lambeaux s'étalent aisément sous le simple poids de la lamelle.

Les faibles grossissements autorisés par ces préparations macroscopiques n'ont pas permis aux auteurs de conclure fermement. Cependant, bien qu'ils n'aient pu suivre les ramifications terminales des travées cardiaques et leur destinée, ils s'accordent pour admettre qu'il n'est pas impossible que l'état syncytial existe à l'état diffus, en différents points du myocarde. A leur avis, on se trouverait, chez l'Escargot, en présence d'un réseau musculaire relativement lâche qui pourrait fournir une explication anatomique aux écarts physiologiques que présente l'organe à la « loi du tout ou rien ».

En résumé, les auteurs les plus récents estiment tous que les fibres musculaires cardiaques ne sont pas totalement indépendantes, bien qu'on ne puisse envisager chez les Mollusques une structure myocardique comparable à celle que l'on rencontre chez les Vertébrés.

b) Structure microscopique des fibres cardiaques de l'Escargot :

La morphologie de la fibre musculaire du cœur de l'Escargot a également fait l'objet de nombreuses recherches.

On sait actuellement que la fibre myocardique des Mollusques est une fibre striée.

La première mention de cette striation, dans le cœur des Céphalopodes date de 1853, et se trouve dans un travail de Muller, H. (**195**).

Darwin, F. (**57**) observe dans les fibres de l'Escargot une striation nette en certains points, tandis qu'en d'autres points, les fibres ont un aspect granuleux.

Cette striation est également observée par Dogiel, J. (**61**), mais Fol, H. (**74, 75**) et Lang, A. (**159**) en contestent la réalité.

Prenant, A. (**215, 216**) a le premier décrit cette striation dans le cœur d'*Helix*. Il note qu'elle est du type simple, c'est-à-dire formée de l'alternance de disques clairs et de disques sombres, mais, en la comparant à celle des fibres cardiaques d'autres Mollusques où l'on rencontre des stries Z, il en arrive à se demander si la ténuité même des fibrilles chez l'Escargot, ne dissimulerait pas les stries d'Amici.

Marceau, F. (**179**), au cours de recherches semblables, établit que chez

cet animal, la striation transversale est bien due à des fibrilles hétérogènes de type simple. Ces fibrilles sont disposées à la périphérie de la fibre, entourant une colonne sarcoplasmique contenant les noyaux axiaux. La striation des fibres peut être franchement transversale, ou bien oblique, et cette variabilité d'orientation s'expliquerait par l'absence de la membrane d'Amici qui, dans les autres fibres musculaires, maintient constants les rapports réciproques des fibrilles.

En ce qui concerne la forme des noyaux, MARCEAU, F. signale leur forme allongée, ellipsoïdale, rappelant celle des noyaux des fibres cardiaques des Vertébrés. La substance chromatique y est abondante, répartie en granulations indépendantes ou même en réseau continu. D'après cet auteur, les noyaux sont de taille variable et peuvent même être confondus avec ceux des cellules conjonctives. Celles-ci sont d'ailleurs fort rares et ont l'aspect de cellules rameuses intrafasciculaires.

c) INNERVATION INTRINSÈQUE — CELLULES GANGLIONNAIRES.

La question de la présence ou de l'absence de cellules ganglionnaires dans le cœur des Mollusques en général, et dans celui de l'Escargot en particulier, a souvent été soulevée, et aucun auteur, jusqu'ici, n'a pu y apporter de réponse. Presque tous les chercheurs ont identifié dans le myocarde des formations particulières auxquelles, suivant leur opinion personnelle sur l'origine de l'automatisme cardiaque, ils ont attribué un rôle nerveux ou un rôle conjonctif. L'accord n'est pas fait au sujet du rôle de ces formations.

DOGIEL, J. (**61**) admet l'existence d'éléments nerveux dans le cœur de l'Escargot. D'après lui, ces ganglions se présentent sous la forme d'éléments apolaires, localisés dans le sillon auriculo-ventriculaire et disséminés au travers de l'oreillette. Dans l'esprit de cet auteur, ces formations constituent les centres d'initiation des contractions cardiaques.

FOSTER, M. et DEW-SMITH, A. G. (**78**, **79**) ont trouvé également des éléments semblables, mais les identifient à des éléments conjonctifs, rôle que DARWIN, F. leur avait déjà attribué en raison de leur aspect piriforme particulier.

NALEPA, A. (**201**) cependant, au moyen de l'imprégnation au chlorure d'or, prétend avoir trouvé, disséminées au travers du réseau nerveux, de rares cellules ganglionnaires.

RANSOM, W.B. (**221**), en utilisant plusieurs techniques, a trouvé également dans l'oreillette d'*Helix pomatia* des cellules rondes ou ovales, à noyau peu apparent, excentrique, contenant souvent un nucléole. Cependant cet auteur n'a pas cru devoir leur prêter un rôle nerveux en raison des variations trop considérables de leurs prolongements protoplasmiques; de plus, il ne les a jamais vues en rapport avec des fibres nerveuses. Aussi, pense-t-il qu'elles représentent plutôt des éléments conjonctifs et n'hésite-t-il pas à affirmer, lui aussi, que DOGIEL, J. a confondu cellules nerveuses et éléments conjonctifs.

A côté de ces auteurs qui nient la nature nerveuse des éléments décrits, on en trouve d'autres qui leur accordent un rôle ganglionnaire. C'est ainsi que HALLER, B. (**96**) reconnaît (dans le cœur des Rhipidoglosses marins) deux types de cellules nerveuses en relation avec les fibres nerveuses issues du ganglion

viscéral : les unes, multipolaires, sont de petite taille tandis que les autres, à deux prolongements, ont un aspect piriforme.

MARCEAU, F. (**179**) a retrouvé des éléments cellulaires analogues chez plusieurs Mollusques (chez *Pecten* et chez l'Anodonte), mais il ne semble pas d'accord pour admettre les relations signalées par HALLER, B. de ces cellules avec les filets nerveux d'origine centrale d'une part, et les fibres musculaires d'autre part. Il a également observé des cellules multipolaires à la surface des travées cardiaques, mais il s'agirait là, à son avis, d'amœbocytes morts, étant donnée leur absence de connexions avec les fibres sous-jacentes.

POMPILIAN, M. (**213**) reconnaît quatre formes d'éléments nerveux dans le cœur de l'Escargot. Les uns apolaires, et classés arbitrairement en trois groupes d'après leur affinité tinctoriale au bleu polychrome d'Unna ; les autres, semblables aux précédents mais munis de deux prolongements protoplasmiques très fins.

EIGER, M. (**66**) établit la présence d'un ganglion sous-endocardique au niveau du débouché auriculaire de la veine pulmonaire.

JULLIEN, A. (**116**), au niveau de l'oreillette d'*Helix* observe sur les travées musculaires, des noyaux qui forment une véritable hernie, formations que PLENK, H. (**211**) avait qualifiées d'artefacts.

d) INNERVATION EXTRINSÈQUE DU CŒUR DE L'ESCARGOT :

En ce qui concerne les rapports du cœur de l'Escargot avec une innervation extrinsèque éventuelle, la question en est restée au point où l'a laissée RANSOM, W.B. (**221**).

Les auteurs antérieurs qui se sont attachés à l'étude du cœur de l'Escargot [FOSTER, M. (**77**), FOSTER, M. et DEW-SMITH, A. G. (**78**), DARWIN, F. (**57**), FOSTER, M. et DEW-SMITH, A. G. (**79**)] et de ses formations ganglionnaires possibles, n'ont pas reconnu d'innervation extrinsèque à l'organe.

NALEPA, A. (**201**) est le premier à décrire les nerfs afférents au cœur des Mollusques et ses données sont confirmées par RANSOM, W.B. (**221**). De la masse ganglionnaire sous-œsophagienne partent deux nerfs viscéraux. Le nerf gauche, qui longe l'aorte, envoie d'abord des ramifications aux organes génitaux avant de se diviser en deux branches terminales destinées au cœur.

L'une d'entre elles arrive au ventricule en passant dans la paroi de l'aorte ; l'autre chemine sur la face profonde du rein et pénètre dans l'oreillette au niveau du débouché de la veine pulmonaire. NALEPA, A. rattache en plus, au nerf viscéral, l'innervation des parois vasculaires.

CARLSON, A.J. (**48**) qui a beaucoup expérimenté sur les nerfs cardiaques des Invertébrés, n'a pu, pour sa part retrouver le trajet du nerf cardiaque de l'Escargot décrit par RANSOM, W.B., mais il admet la description de cet auteur, qui concorde avec les données de l'exploration physiologique.

Les travaux plus récents sur l'innervation du cœur des Gastéropodes portent plutôt sur la phylogénie du système nerveux chez les Mollusques que sur la topographie même des nerfs. Cependant, ces recherches méritent d'être résumées ici car elles nous permettront d'apporter un correctif à la description de RANSOM, W.B. en ce qui concerne l'origine et le trajet du nerf viscéral.

On sait que le système nerveux des Gastéropodes comprend deux colliers nerveux péri-œsophagiens : le collier cérébro-pédieux et le collier cérébro-viscéral, qui ont en commun les deux *ganglions cérébroïdes*, disposés symétriquement sur la face dorsale du bulbe buccal et réunis entr'eux par la commissure cérébrale.

Les *ganglions pédieux*, disposés également de façon symétrique, à la face inférieure du bulbe buccal, se rattachent d'une part aux ganglions cérébroïdes par les connectifs cérébro-pédieux, et d'autre part sont réunis entr'eux par la commissure pédieuse. Cet ensemble constitue le premier collier nerveux.

Le deuxième collier comprend d'avant en arrière, les *ganglions cérébroïdes*, les *ganglions pleuraux* et les *ganglions viscéraux*. Ces deux derniers peuvent être plus ou moins fusionnés en une seule masse. Tous les ganglions d'un même côté sont réunis entr'eux par des connectifs : cérébro-pleuraux et pleuro-viscéraux. En général, sur chaque connectif pleuro-viscéral existe un *ganglion dit pariétal*.

Chaque ganglion pleural est réuni au ganglion pédieux homologue de sorte que sur chaque côté du bulbe buccal existe un triangle nerveux.

La théorie de SPENGEL, J.W. (**241**) admet que le type primitif des Gastéropodes Prosobranches est représenté par un animal symétrique, dont la totalité du complexe palléal (manteau, cœur et branchies) se trouve entièrement située en arrière. Par la suite, l'ensemble de ce complexe aurait tourné de 180° sur la droite de l'animal, pour venir occuper une position antérieure. Les ganglions postérieurs auraient été entraînés dans ce mouvement de torsion, de sorte que les connectifs cérébro-viscéraux auraient subi un croisement (*chiastoneurie*). Le ganglion pariétal droit, qui assure chez les Prosobranches monotocardes l'innervation de la branchie et de la fausse branchie, passe au-dessus du tube digestif et devient le ganglion sus-intestinal, tandis que le ganglion pariétal gauche, qui envoie des filets nerveux à la partie gauche du manteau, passe au-dessous du tube digestif, devenant ainsi le ganglion sous-intestinal. Cette disposition se rencontre chez les Gastéropodes *streptoneures*.

En ce qui concerne les Pulmonés, la question a été controversée. Pour PERRIER, R. (**204-205**), il n'y a pas de doutes : le système nerveux n'a pas subi de torsion en raison de sa concentration dans la région céphalique qui n'a pas été touchée par le déplacement du complexe palléal.

Pour LANG, A. (**158**) les ganglions n'étaient pas encore rassemblés autour du bulbe buccal lorsque le mouvement de torsion a eu lieu, mais celui-ci n'a pas été suffisant pour amener les ganglions pariétaux au-delà du plan de symétrie initial de l'animal.

Pour ces deux auteurs, les Gastéropodes Pulmonés sont *euthyneures* (ou *orthoneures*) c'est-à-dire que leurs connectifs cérébro-viscéraux sont toujours restés du côté où on les trouve actuellement.

Ces explications seraient à l'abri de toutes critiques si elles pouvaient rendre compte du croisement, dès sa naissance, du nerf destiné au pneumostome, par le nerf viscéral.

Aussi, HANSTRÖM, B. (**99**) apporte-t-il à l'évolution du système nerveux des Pulmonés une explication toute différente (fig. 1). Il y aurait eu d'abord chiastoneurie (croisement des connectifs cérébro-viscéraux) au cours du mouve-

ment de migration du complexe palléal de l'arrière vers l'avant, puis concentration des ganglions dans la région céphalique. La masse ganglionnaire viscérale, au cours de ces modifications, aurait subi d'abord une rotation de 180° dans un plan vertical, puis une deuxième rotation, également de 180°, dans un plan horizontal qui aurait ramené les ganglions viscéraux droit et gauche dans leur position initiale. Ces deux transformations successives ont amené la partie postérieure de ces ganglions vers l'avant.

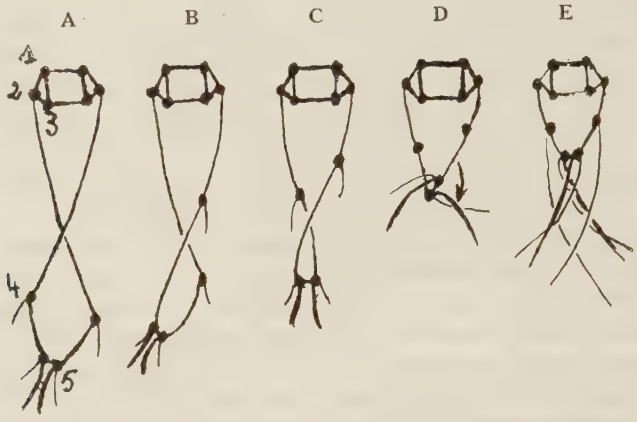

FIGURE 1. — Variations de la disposition des ganglions nerveux chez les Gastéropodes, et explication du croisement des nerfs viscéraux chez l'Escargot.

1 ganglions cérébroïdes.
2 ganglions pleuraux.
3 ganglions pédieux.
4 ganlions pariétaux.
5 ganglions viscéraux.

En A, disposition des ganglions nerveux chez les Gastéropodes Prosobranches monotocardes.

En B, chez *Chilina* : « Les ganglions émigrent vers l'avant, laissant le croisement en arrière. La détorsion ne peut s'effectuer que par une rotation des ganglions viscéraux de 180° (C et D). Le croisement des nerfs pariétaux et viscéraux (E) doit être considéré comme typique des Pulmonés primitifs » (d'après MERKER).

(*Emprunté à* HANSTRÖM, B.).

Ainsi, il ne reste rien de la chiastoneurie primitive, si ce n'est un croisement des nerfs viscéraux et pariétaux, qui ne peut s'expliquer autrement que par ce processus.

La disposition primitive des ganglions peut se trouver plus ou moins remaniée. C'est ainsi que le ganglion pariétal droit peut se rapprocher du ganglion pleural homologue, au point de fusionner avec lui, tandis que le ganglion pariétal gauche (sous intestinal) peut faire masse commune avec le ganglion viscéral. Ce phénomène se produirait très fréquemment chez les Pulmonés.

Primitivement, le ganglion viscéral donne le nerf génital, tandis que le ganglion sous-intestinal assure l'innervation du pneumostome et de l'anus. Après fusion de ces deux ganglions, il va de soi que la masse ganglionnaire résultante donne naissance aux nerfs afférents aux mêmes organes. En remplacement du ganglion disparu peuvent apparaître un ou deux ganglions néoformés dont les nerfs se

rendent à la paroi gauche du corps de l'animal. Dans tous les cas, le collier viscéral comprend toujours cinq ganglions.

D'après la plupart des auteurs, les ganglions pleuraux n'émettent pas de nerfs. Certains cependant en signalent trois destinés, l'un au muscle rétracteur du pharynx, les deux autres au muscle columellaire.

PERRIER, R. désigne ces ganglions sous le nom de ganglions palléaux, alors qu'ils n'ont aucun rapport avec le manteau.

D'après HANSTRÖM, B., chez *Helix pomatia*, les deux ganglions pariétaux sont en place. Le ganglion pariétal gauche (sous-intestinal) envoie ses ramifications à la partie gauche du manteau, tandis que le ganglion sus-intestinal (pariétal droit) émet un *nerf palléal externe* et un *nerf palléal interne* à la partie droite du manteau. De plus il donne naissance au *nerf aortique* qui passe dans la paroi de l'aorte pour arriver au plancher de la cavité pulmonaire.

Le ganglion viscéral est unique : il en partirait un *nerf anal* qui contrôlerait une partie du manteau, en plus du canal excréteur et du rectum; — un *nerf intestinal* destiné aux organes génitaux, au rein, au foie, au péricarde et à une partie de l'intestin; — un *nerf cutanéopalléal* destiné à la peau et aux parties musculaires postérieures du manteau.

Ici s'impose une remarque. Si le nerf anal chez les Mollusques Gastéropodes prend naissance normalement au niveau du ganglion sous-intestinal, (comme il a été dit plus haut) il en résulte que dans le cas particulier de l'Escargot, le ganglion viscéral, qui est à l'origine de ce même nerf anal, provient de la fusion du ganglion viscéral primitif et du ganglion pariétal gauche.

En ce qui concerne la structure des ganglions nerveux de l'Escargot, les recherches de NABIAS, A. DE (**198**) et de LEGENDRE, R. (**161**) ont montré, après celles de HALLER, B. (**94**, **95**) qu'ils étaient constitués de cellules de taille variable. En particulier, les ganglions cérébroïdes renferment un grand nombre de cellules de petite taille, tandis que les ganglions de la vie végétative comportent une grosse majorité de grosses cellules. Entr'autres le ganglion viscéral est constitué de cellules énormes dont les tailles s'échelonnent de 72 à 220 microns.

En ce qui concerne la structure des nerfs de l'Escargot, nous n'avons trouvé aucun renseignement bibliographique.

II

RECHERCHES PERSONNELLES SUR L'ANATOMIE DE L'INNERVATION EXTRINSEQUE DU CŒUR DE L'ESCARGOT

a) STRUCTURE DE LA MASSE SOUS-ŒSOPHAGIENNE :

Dans une première série de recherches, nous nous sommes attaché à préciser la structure de la masse ganglionnaire sous-œsophagienne, tout au moins en ce qui concerne l'origine du nerf viscéral.

Pour cela, nous avons opéré sous la loupe binoculaire (× 40). La gaine conjonctive qui entoure l'ensemble du collier nerveux, très épaisse, est enlevée par petits lambeaux au moyen de ciseaux très fins. Après ce premier temps, la substance nerveuse apparaît comme une masse granuleuse, blanche, en raison vraisemblablement de la grande dimension des cellules qui la constituent.

Avant d'être examinée au faible grossissement du microscope, cette préparation est déshydratée par la série des alcools, puis éclaircie au toluène, enfin montée entre lame et lamelle avec une goutte de toluène comme milieu transparent.

Sans aucune coloration, il est possible de distinguer nettement la structure de la masse sous-œsophagienne (fig. 2).

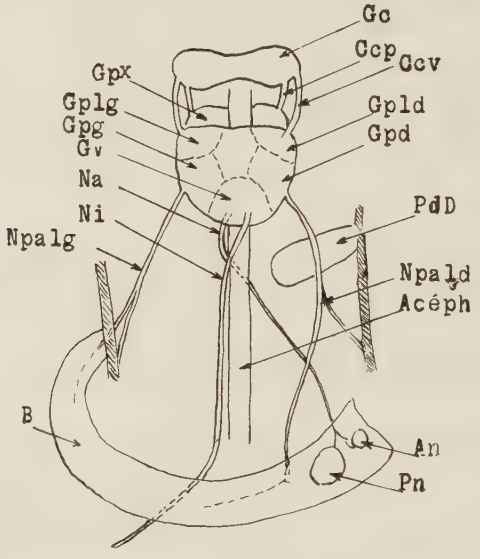

FIGURE 2. — Disposition des ganglions sous-œsophagiens et de leurs nerfs, chez *Helix pomatia*.

A céph	artère céphalique.
An	anus.
B	bourrelet palléal.
Ccp	connectif cérébro-pédieux.
Ccv	connectif cérébro-viscéral.
Gc	ganglions cérébroïdes.
Gpd	ganglion pariétal droit.
Gpg	ganglion pariétal gauche.
Gpld	ganglion pleural droit.
Gplg	ganglion pleural gauche.
Gpx	ganglions pédieux.
Gv	ganglion viscéral.
Na	nerf anal.
Ni	nerf intestinal = nerf viscéral.
Npald	nerf palléal droit.
Npalg	nerf palléal gauche.
PdD	poche du dard.
Pn	pneumostome.

Les traits pointillés dans la masse sous-œsophagienne représentent les cloisons conjonctives qui séparent les différents ganglions.

Les bandes hachurées représentent les parois de la région céphalopédieuse sectionnées.

Les corps des neurones, très volumineux, sont groupés en amas de cent à deux cents unités. Chacun de ces amas est séparé des voisins par une mince cloison conjonctive et il semble bien que chaque compartiment ainsi délimité corresponde à un ganglion. En tous cas, il n'est pas possible de distinguer sur cette préparation les connectifs qui sont devenus virtuels en raison de la condensation extrême des masses nerveuses.

Le ganglion viscéral unique et postérieur, donne naissance à deux nerfs seulement, alors que HANSTRÖM, B. en décrit trois. De la droite du ganglion part un nerf important qui, le long de l'aorte, remonte vers les organes génitaux et le cœur : c'est le *nerf viscéral* ou *nerf intestinal* (HANSTRÖM, B.).

Un deuxième nerf part de la partie gauche du ganglion, croise par dessous le nerf intestinal et l'aorte, gagne le plancher de la cavité pulmonaire et passe dans le bourrelet, entre le pneumostome et l'anus. L'excitation faradique de ce nerf entraîne la fermeture du pneumostome : il s'agit vraisemblablement du *nerf anal* de HANSTRÖM.

De part et d'autre du ganglion viscéral et disposées un peu en avant de ce ganglion, se situent deux masses ganglionnaires qui donnent chacune naissance à un nerf palléal : ce sont les ganglions pariétaux.

Le nerf palléal droit passe au-dessus de la poche du dard, envoie un rameau à la paroi droite du corps et pénètre dans le bourrelet, à gauche du pneumostome.

Le nerf palléal gauche traverse la paroi gauche de l'animal et passe également dans le manteau au niveau de l'insertion du bourrelet sur la région céphalopédieuse.

Nous aurons à revenir sur ce dernier nerf en raison de ses propriétés cardio-accélératrices, dans l'exposé relatif à la physiologie de l'innervation extrinsèque du cœur.

b) TOPOGRAPHIE DU NERF VISCÉRAL (NERF INTESTINAL) :

1) *Technique de mise à nu*

Le mode opératoire que nous allons décrire ici a été utilisé chaque fois que nous avons eu à travailler sur le cœur *in situ*, avec ou sans excitation du nerf viscéral.

L'animal est débarrassé de sa coquille, avec le moins de traumatismes possible, de la façon suivante. On engage un des mors d'une forte pincette entre le manteau et la coquille que l'on fait sauter par petits morceaux, tout le long de la ligne de suture, sur la longueur d'un tour et demi de spire environ. On écarte légèrement, à la main, les deux bords de la cassure : il est fréquent, en procédant ainsi, que toute la dernière spire (spire externe) se détache d'une seule pièce, sans laisser le temps à l'animal, en se rétractant, de se déchirer contre les arêtes acérées de la coquille fracturée.

Pour enlever le reste du test, on détache, avec un fin scalpel, le muscle columellaire de son insertion qui est alors très facilement accessible, et on sort le tortillon de l'animal en le « dévissant » de sa gaine.

Après cette première intervention, l'animal ne tarde pas à se mettre en mouvement. On le place sur une plaque de liège et lorsqu'il est en pleine extension,

on le fixe en cet état contre son support en le transperçant simultanément de deux épingles passées, l'une dans le pied, l'autre dans la région céphalique, un peu en arrière des tentacules.

L'ouverture de la chambre pulmonaire se fait à partir du pneumostome. Une première incision, longeant le rectum, atteint le fond de la cavité, c'est-à-dire la limite postérieure de la zone claire qui caractérise l'organe de Bojanus.

Une deuxième incision détache le bourrelet de son insertion sur le mufle de l'animal. Le manteau est étalé sur la gauche de l'Escargot (fig. 3).

Après avoir repéré sur le plancher de la cavité pulmonaire la proéminence que fait l'artère céphalique, toujours très marquée, on pratique l'ouverture de la

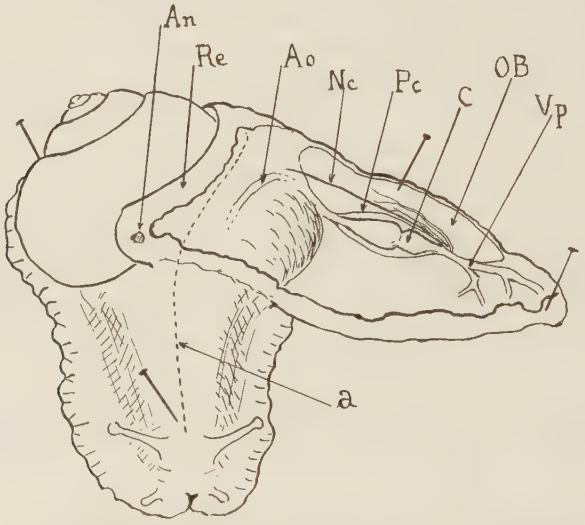

FIGURE 3. — Disposition des divers organes dans les cavités pulmonaire d'un Escargot à manteau étalé

a	ligne d'incision de la cavité viscérale.
An	anus.
Ao	artère céphalique.
C	cœur (oreillette et ventricule).
Nc	branche auriculaire du nerf viscéral.
OB	rein (organe de Bojanus).
Pc	insertion du feuillet péricardique interne au niveau du rein.
Re	rectum.
Vp	veine pulmonaire.

cavité viscérale en incisant la peau du mufle, suivant une ligne médio-dorsale, à partir des tentacules. On prolonge cette incision sur le plancher, jusqu'aux abords de la portion visible de l'aorte.

Les quelques brides conjonctives qui enserrent le bulbe buccal et les organes génitaux sont facilement dilacérées. La portion terminale de l'appareil reproducteur et le début du tube digestif sont réclinés respectivement à droite et à gauche du pied et maintenus épinglés.

Sur une telle préparation, l'artère céphalique est bien visible; elle longe le plan médian de la portion céphalique du pied. Le système nerveux central,

formant une bandelette épaisse autour du bulbe buccal, est également aisément repérable.

L'aorte s'engage d'ailleurs sous le bulbe buccal et traverse la portion inférieure du collier péri-œsophagien.

2) *Description du trajet nerveux.*

Dès sa naissance de cette partie du système nerveux, le nerf viscéral longe l'artère céphalique dans toute sa portion pédieuse (fig. 4). Parfois bien isolé, il est le plus souvent inclus dans une mince gaine conjonctive qui le maintient lâchement accolé au vaisseau.

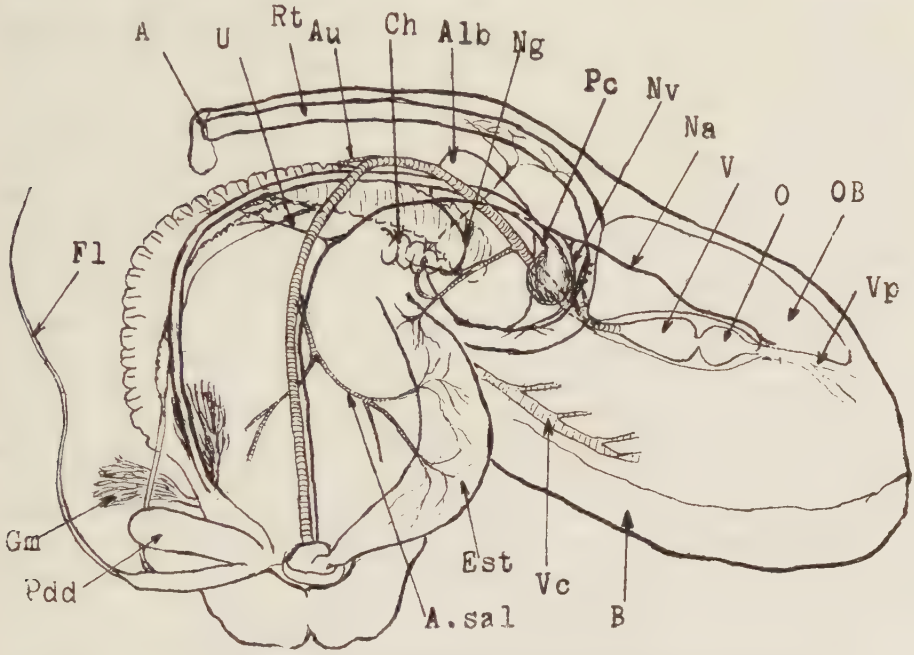

FIGURE 4. — Topographie du nerf viscéral de l'Escargot.

A anus.
Alb glande à albumine.
A.sal artère salivaire
Au artère utérine.
B bourrelet palléal.
Ch canal hermaphrodite.
Est estomac.
Fl flagellum.
Gm glandes multifides.
Na nerf auriculaire.
Ng nerf génital (destiné à la partie supérieure de l'appareil génital).
Nv nerf ventriculaire.
O oreillette.
OB organe de Bojanus.
Pc poche copulatrice.
Pdd poche du dard.
Rt rectum.
U branche utérine du nerf viscéral.
V ventricule.
Vc veine circulaire.
Vp veine pulmonaire.

Après avoir émis un rameau en direction des portions périphériques de l'appareil génital, et un autre nerf vers le canal hermaphrodite, il passe sous le canal de la poche copulatrice et sous l'artère céphalique, près de la glande à albumine, avant de remonter tout près de la muqueuse qui tapisse le fond de la cavité pulmonaire. Visible encore à l'œil nu dans cette zone, il a l'aspect d'un fin tractus blanc nacré. Si on le dégage du tissu conjonctif lâche qui l'entoure, on voit qu'il émet une branche à destination du ventricule. Ce filet, que nous désignerons, par la suite, sous le nom de *nerf ventriculaire*, arrive au myocarde en pénétrant d'abord dans la paroi du tronc artériel commun à l'artère céphalique et à l'artère viscérale.

Sauf dans quelques cas, particulièrement favorables, il devient très malaisé de poursuivre le trajet intracardiaque des ramifications ultimes du nerf ventriculaire.

La branche terminale du nerf viscéral passe ensuite sur la face interne de l'organe de Bojanus. Bien que sa teinte ne tranche pas nettement sur la couleur ocre du rein, on arrive à la suivre facilement sur tout son trajet jusqu'à l'oreillette; elle aborde le rein au milieu de sa limite postérieure et se dirige vers le cœur. Arrivée au niveau de l'insertion du feuillet péricardique interne, elle longe celle-ci jusqu'au contact de l'oreillette, s'en détache pour pénétrer d'une part dans le myocarde auriculaire et d'autre part dans le rein.

Cette description générale de l'innervation du cœur correspond à celle qu'en donne RANSOM, W.B. Cet auteur fait partir deux nerfs viscéraux de la masse ganglionnaire sous-œsophagienne; pour lui, le nerf gauche longe d'abord l'aorte, envoie des ramifications aux organes génitaux et se divise finalement en deux branches : l'une d'elles pénètre avec l'aorte dans le ventricule, tandis que l'autre va vers le rein, où elle se subdivise encore avant de donner un filet unique à destination de l'oreillette. Il est évident que pour RANSOM, W.B., le *nerf viscéral gauche* représente le nerf intestinal, et que le croisement des deux nerfs issus du ganglion viscéral lui a échappé.

3) *Topographie des ramifications terminales des branches cardiaques du nerf viscéral :*

Nous complèterons cette description par quelques détails dont la recherche nous a été inspirée par des considérations d'ordre physiologique et sur lesquelles nous reviendrons ultérieurement.

Si l'on examine au grossissement × 40 le point de séparation du nerf ventriculaire et du nerf auriculaire, on constate que le premier est constitué de fibres d'origine centrale et surtout de fibres venant du nerf auriculaire (fig. 5).

Ce nerf ventriculaire s'enfonce, dès son émission, dans un tissu conjonctif assez lâche d'où il est facile de le dégager. Pour le rendre nettement visible, à mesure que nous avancions dans la dissection, nous injections de petites quantités d'une solution formolée dans les tissus voisins au moyen d'une seringue à injections, ce qui le rendait d'une part plus résistant aux légers efforts de traction toujours inévitables, et d'autre part, lui conférait un aspect blanc nacré tranchant nettement sur celui des tissus avoisinants.

Dans son bref parcours, le nerf ventriculaire envoie encore un ou deux filets vers les couches profondes du rein, une ramification assez importante à la dernière anse intestinale et se dirige ensuite vers le point de bifurcation de l'artère viscérale et de l'artère céphalique, situé sur notre préparation au-dessous de la portion intestinale mentionnée plus haut. Des subdivisions terminales, les unes se dirigent aux parois des artères où elles se perdent, les autres pénètrent dans la paroi du tronc aortique commun. Il n'est pas impossible qu'à partir de ce point-là, la disposition anatomique des filets nerveux ultimes soit sujette à des variations individuelles.

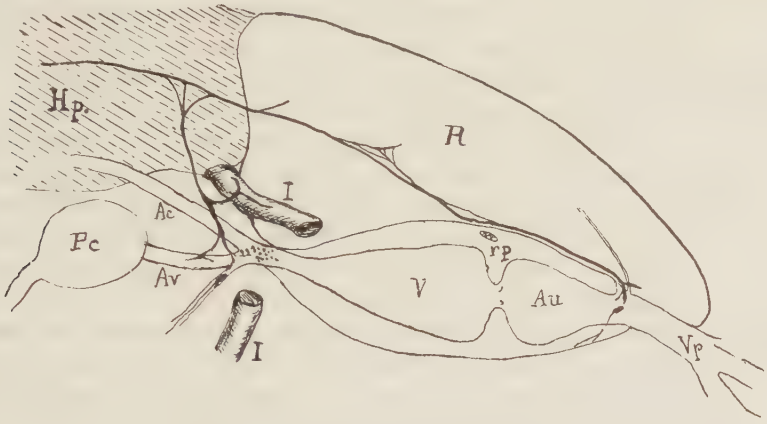

FIGURE 5. — Schéma de l'innervation du cœur de l'Escargot (face interne du manteau).

Ac	artère céphalique.
Au	oreillette.
Av	artère viscérale.
Hp	hépatopancréas.
I	intestin, portion terminale avant le rectum.
Pc	poche copulatrice.
R	rein = organe de Bojanus.
rp	orifice réno-péricardique.
V	ventricule.
Vp	veine pulmonaire.

Le nerf ventriculaire, dans la paroi du tronc aortique commun, se ramifie encore et en général, il devient impossible de suivre, même à la loupe, son point d'aboutissement.

L'étalement de cette région du cœur entre lame et lamelle, suivi de l'examen au microscope, ne donne pas de renseignements plus précis, même si après avoir fixé histologiquement la préparation, on procède aux colorations des tissus par les techniques usuelles. Le tissu nerveux de l'Escargot ne présente pas d'affinités bien marquées pour aucun des colorants que nous avons utilisés : bleu de méthylène, hémalum, éosine, acide osmique.

Cependant, il nous est arrivé de rencontrer certains exemplaires d'Escargots particulièrement favorables à l'observation, *in vivo*, des ramifications intracardiaques du tronc viscéral. En effet, nous avons eu l'occasion d'en trouver plusieurs chez lesquels les filets viscéraux, ordinairement invisibles même à la

loupe, tranchaient nettement par leur aspect blanc nacré, — aspect dû peut-être à la présence de glycérophosphatides en faible couche sous la gaine de Schwann — sur la masse translucide des tissus avoisinants. Grâce à cette disposition anatomique, — qui allait de pair, d'ailleurs, avec une colorabilité plus marquée du tissu nerveux pour les colorants usuels, — nous avons pu noter quelques particularités au niveau des ramifications terminales du nerf viscéral. En particulier, nous avons pu voir une ramification du nerf ventriculaire entrer en relation avec une formation blanche, ovoïde, placée sur une ramification de l'artère viscérale destinée à l'hépatopancréas. De cette masse ovale partait un fin rameau qui restait inclus dans la paroi du vaisseau (fig. 5). Par son aspect et par ses dimensions qui n'excèdent pas celles des autres cellules nerveuses, cette formation nous paraît constituer sans aucun doute possible, un relais ganglionnaire.

Sur le même animal, le tronc aortique commun se montrait piqueté de petites taches blanches; ce lambeau apical du ventricule, fixé et coloré, nous a montré l'existence de ces cellules fusiformes considérées par les auteurs soit comme des cellules ganglionnaires, soit comme des cellules conjonctives. Signalons que l'on ne rencontre ce type de cellules que dans cette région du ventricule et qu'il est assez difficile, de ce fait, de les identifier à des cellules conjonctives qui devraient être réparties de façon uniforme dans tout le myocarde.

Enfin, toujours sur le même animal, l'examen du nerf auriculaire nous a révélé que si une partie de ses fibres se rendait à l'oreillette, d'autres fibres allaient s'articuler, dans la paroi du péricarde, avec des ganglions de même aspect que celui que nous venons de décrire dans la paroi d'une artériole hépatique.

De plus, beaucoup de travées musculaires de l'oreillette étaient accompagnées, jusqu'à leur jonction avec le myocarde ventriculaire, d'un filet blanc nacré, dont l'aspect correspondait à celui des nerfs de l'animal; ainsi une partie des fibres provenant du nerf auculaire semble destinée au ventricule.

c) Structure histologique du myocarde ventriculaire et auriculaire :

Morphologie des fibres ventriculaires.

Ces recherches ont été effectuées sur des ventricules, fixés par une solution hypermagnésienne formolée au 1/10 après action de solutions diastolisantes de chlorure de calcium ou de magnésium, inclus à la paraffine, débités en coupes de 5 microns et colorés à l'hématoxyline de Regaud.

L'examen des fibres musculaires montre qu'elles comportent toutes des fibrilles leur conférant l'aspect strié.

Sur des coupes longitudinales de l'organe, on reconnaît dès le faible grossissement, une dualité structurale qui se traduit par une différence de colorabilité des éléments anatomiques du ventricule.

Alors que la base du ventricule et toute la partie superficielle du tiers basal et du tiers médian sont fortement colorées, la pointe et toute la région bordant la lumière ventriculaire et normalement en contact avec l'hémolymphe, sont moins fortement teintées.

Il est évident que nous retrouvons là les deux systèmes de travées musculaires déjà signalés par Marceau, F. (**179**); le système de travées circulaires, épais

à la pointe, s'amincissant en direction du sillon auriculo-ventriculaire, et le système de travées longitudinales, bien décrit par JULLIEN, A. (**116**), formant un manchon autour du précédent, et dont l'épaisseur varie en sens inverse de celui du système circulaire.

A de forts grossissements, les fibres de la base du ventricule (système longitudinal) se montrent riches en fibrilles et relativement pauvres en sarcoplasme. Les noyaux, aisément reconnaissables par leur position axiale, sont ronds ou très peu allongés, toujours très fortement colorés par l'hématoxyline.

Au niveau de la pointe, les fibres musculaires sont peu fournies en fibrilles, disposées de façon assez lâche autour d'une colonne sarcoplasmique. Les noyaux sont allongés, peu colorables.

Sur quelques coupes favorables, nous avons pu observer le passage progressif de ce type de fibres musculaires, à fibrilles peu abondantes, au type de fibres musculaires hautement différencié.

Cette dualité morphologique et la transition entre les deux types de fibres cardiaques nous rappellent l'aspect et les relations du tissu embryonnaire et du myocarde banal dans le cœur des Vertébrés.

Morphologie des fibres auriculaires.

Dans l'oreillette, les deux types de noyaux rencontrés dans le ventricule se retrouvent répartis de façon sensiblement uniforme au travers de tout l'étage.

Comme dans le ventricule, on voit par endroits, les fibrilles passer d'une fibre à l'autre.

L'étalement de fragments d'oreillette entre lame et lamelle, suivi de la fixation du lambeau auriculaire par immersion de l'ensemble de la préparation dans une solution formolée au 1/10 ou dans de l'alcool, donne une préparation assez peu épaisse pour permettre une bonne observation au microscope après coloration à l'hémalun-éosine et montage au baume du Canada.

Dans ces conditions, les travées musculaires apparaissent très distinctes et les fibres cardiaques sont aisément discernables : leurs noyaux sont relativement petits.

Par contre, accolées contre les travées musculaires, on voit de grosses masses qui ont pris fortement l'hémalun.

Sur coupes colorées à l'hématoxyline ferrique de Regaud, ces mêmes masses apparaissent également très fortement colorées (fig. 6). Elles apparaissent juxtaposées aux travées et semblent prises dans la même gaine conjonctive. Il ne semble pas, sur les préparations que nous avons examinées, qu'elles soient munies de prolongements, ni qu'elles entrent en contact avec les fibres auriculaires.

Leur forme est ovale; leur noyau faiblement colorable. Appliqués contre leur face convexe, on trouve plusieurs noyaux fortement colorés, appartenant vraisemblablement au tissu conjonctif.

En général, l'intérieur de ces formations est masqué par la présence d'une calotte opaque qui l'enveloppe presque entièrement.

Aux forts grossissements, cette calotte se montre bourrée de petites sphérules fortement colorées en noir par l'hématoxyline.

A ces formations, vraisemblablement identiques à celles qu'avait déjà signalées PLENK, M. (**211**) et que JULLIEN, A. (**116**) a retrouvées, il n'est pas possible d'attribuer la valeur d'un artefact; on les rencontre sur toutes les coupes

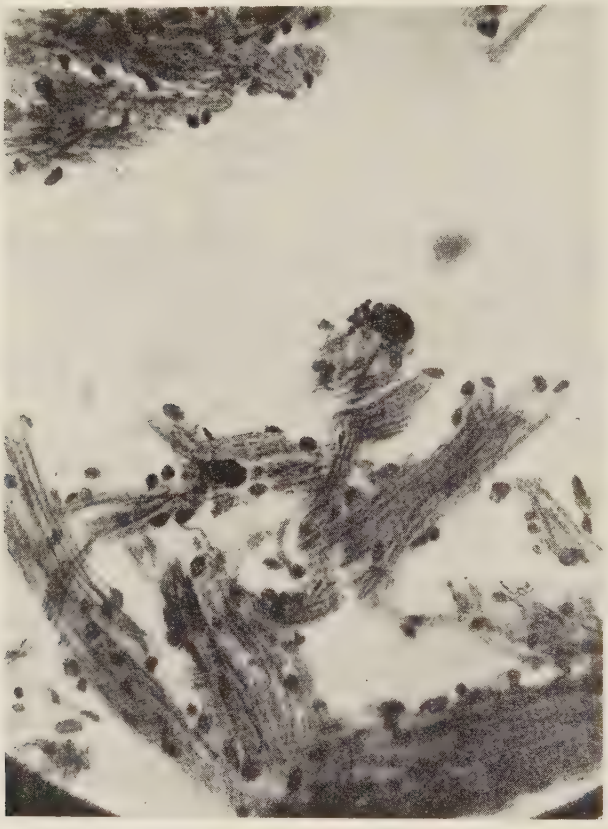

FIGURE 6. — Coupe histologique d'oreillette de l'Escargot. Au centre, une formation, fortement sidérophile, constituée par une agglomération de petites sphérules noires, nettement visibles, appliquées contre une fibre myocardique.
(Coloration hématoxyline ferrique de Regaud).

de l'oreillette, abondantes vers le débouché auriculaire de la veine pulmonaire, plus rares à mesure qu'on se rapproche du sillon auriculo-ventriculaire.

Par leur forme et leur constitution, on ne peut guère les assimiler à des cellules nerveuses et on serait plutôt tenté de leur attribuer un rôle glandulaire en raison des granules sphériques qui remplissent la calotte.

B) PHYSIOLOGIE DU CŒUR D'*HELIX POMATIA* ISOLE ET *IN SITU*

I. — Historique des recherches relatives a l'automatisme du cœur isolé

Dès les premières recherches sur l'activité cardiaque des Mollusques, et en particulier de l'Escargot, l'automatisme du cœur est apparu d'emblée très différent de celui que l'on peut observer chez les Vertébrés. La fréquence des pulsations, la coordination des contractions auriculaires et ventriculaires sont particulièrement instables et semblent devoir dépendre de nombreux facteurs mécaniques ou physiques.

Les conditions hydrodynamiques ont été reconnues comme étant particulièrement importantes dans la genèse des contractions cardiaques.

Selon Biedermann, W. (**21**) sur l'animal saigné à blanc, le cœur s'arrête très longtemps, ou tout au moins ses contractions sont très ralenties, alors que le cœur excisé continue de se contracter pendant un certain temps.

Aussi, toute hémorragie consécutive à une altération des espaces lacunaires des Mollusques entraîne-t-elle comme première conséquence un mauvais remplissage du cœur et une modification du degré de distension de ses parois par l'hémolymphe.

a) *Influence de la tension axiale sur la genèse des contractions :*

En dernière analyse, c'est donc ce dernier facteur de distension du myocarde qui joue le rôle important dans la genèse des contractions du cœur. L'expérience le prouve : alors qu'un cœur excisé et placé sans tension dans un milieu favorable à sa survie ne pulse plus spontanément, il suffit d'une légère tension axiale (par exemple celle imprimée par un levier inscripteur relié à l'organe) pour provoquer la réapparition de l'activité rythmique.

Le cas est particulièrement net chez l'Escargot. D'après Carlson, A.J. (**49**) la fréquence du cœur relié au levier inscripteur est généralement plus faible que celle du cœur *in situ* rempli de sang, et plus élevée que celle que l'on observe au cours des périodes où il est vide d'hémolymphe sur l'animal intact.

Biedermann, W. (**21**) note que le cœur excisé inactif, peut reprendre son activité rythmique sous l'influence d'une tension modérée. Mais, dans ces conditions, chaque partie du cœur (oreillette et ventricule) pulse séparément, alors que sur l'animal normal, on observe une certaine coordination des contractions. De plus, Biedermann, W. note que la fréquence et l'amplitude des contractions augmente avec la tension, l'oreillette pulsant plus rapidement que le ventricule pour les tensions modérées.

La distension des parois cardiaques, provoquée par la colonne liquide introduite dans une canule de Straub sur laquelle est monté un ventricule, semble encore plus efficace que la simple tension axiale de l'organe pour entretenir l'automatisme [STRAUB, W. (**243**)]. Pour CARLSON, A.J. (**49**) la fréquence cardiaque serait directement proportionnelle à la pression exercée sur la face interne de l'organe, entre certaines limites bien entendu : c'est ce phénomène que STRAUB, W. a désigné du nom de « polyrythmie barynogène » (barynogene Polyrythmie).

Bien qu'il soit possible, dans certains cas, d'observer des contractions spontanées du cœur non tendu [RYWOSCH, D. (**237**)] il n'en reste pas moins que le facteur mécanique est parfaitement indispensable à la survie du cœur. En son absence, l'organe meurt rapidement.

Ce rôle primordial de la tension des fibres myocardiques sur l'automatisme du cœur des Mollusques a été reconnu par tous les auteurs ultérieurs.

Pour FREDERICQ, H. (**81**) et FREDERICQ, L. (**82**) la distension est l'excitant normal de l'automatisme.

DUBUISSON, M. (**62**, **63**) estime que la tension des fibres cardiaques de l'Escargot représente « la condition sans laquelle les propriétés automatiques et rythmiques du cœur ne peuvent se manifester ».

BLANC, H., JULLIEN, A. et MORIN, G. (**23**, **24**) reconnaissent également l'influence favorable de la tension sur le cœur, mais notent également que les lambeaux cardiaques, non tendus, sont capables de manifester spontanément leur automatisme, en étant immergés dans de l'hémolymphe de l'animal.

Si la tension du cœur est trop faible, c'est le ventricule qui s'arrête en premier; par contre, si la tension est trop forte, le ventricule conserve son activité le plus longtemps. [JULLIEN, A., MORIN, G. et BLANC, H. (**121**)].

Toutes ces expériences mettent bien en évidence la relation existant entre la tension ou distension du cœur et son activité. Cette influence se manifeste aussi bien vis-à-vis de l'oreillette que du ventricule.

b) *Conduction intracardiaque chez l'Escargot :*

D'après ce qui vient d'être dit, il semblerait qu'on ne puisse parler de conduction auriculo-ventriculaire chez l'Escargot. En effet, cette notion de conduction découle d'observations faites chez les Vertébrés où, à une contraction de l'oreillette correspond normalement une contraction du ventricule, et cela que le cœur soit en place ou excisé. Cette conduction suppose une connexion anatomique entre les deux étages cardiaques. Chez les Vertébrés, on a pu mettre en évidence les faisceaux conducteurs de HIS ou de GASKELL, ou tout au moins, l'entonnoir atrio-ventriculaire, responsables de la transmission de l'onde d'excitation de l'oreillette vers le ventricule. Toute lésion de ce faisceau entraîne une dissociation des rythmes auriculo-ventriculaires.

Il n'en va pas de même chez l'Escargot. L'accord des rythmes ne repose pas sur un substrat anatomique. MARCEAU, F. (**179**) signale que les travées musculaires, « au niveau des divers orifices, se continuent sur un court trajet, soit dans la paroi des oreillettes, soit dans celle des vaisseaux qui y aboutissent ou qui en

partent (veines branchiales, artères) », mais ne s'est pas particulièrement attaché à l'étude du sillon auriculo-ventriculaire.

Nos propres observations sur des coupes longitudinales du cœur entier, bien que nous ayant permis d'établir que les fibrilles ventriculaires ou auriculaires ne passent pas d'un étage à l'autre, ne nous autorisent pas à apporter un argument quelconque sur le mode de jonction auriculo-ventriculaire.

Cependant, en dépit de l'absence de tout système de coordination, sur l'animal intact, non troublé, les rythmes auriculaire et ventriculaire sont parfaitement coordonnés. Ce qui a fait dire à certains auteurs qu'il existait une conduction des contractions de l'oreillette au ventricule. NALEPA, A. (**201**) entre autres, déclare avoir vu naître les contractions au niveau de la veine pulmonaire, se propager d'abord à la totalité de l'oreillette, puis au ventricule. Pour cet auteur, il y aurait bien conduction auriculo-ventriculaire.

Nous avons vu que seuls des facteurs mécaniques, la distension en particulier, sont susceptibles de modifier la fréquence propre de chacun des deux étages cardiaques du cœur de l'Escargot. Cependant, si on voulait s'en tenir au seul facteur de distension pour expliquer l'accord des rythmes auriculaire et ventriculaire, il serait possible de soulever bien des objections. En effet, sous l'influence d'une pression liquide donnée (pression de l'hémolymphe par exemple), il semble que les deux étages cardiaques ne doivent pas être sollicités de la même façon : l'oreillette, facilement déformable et extensible en raison de la minceur de ses parois, subirait un allongement de ses fibres beaucoup plus fort que le ventricule, plus massif. Aussi, théoriquement, les fréquences des deux étages devraient-elles être très différentes l'une de l'autre *in vivo*.

Or c'est précisément l'inverse que l'on observe. Cette coordination est d'ailleurs particulièrement fragile : toute atteinte de l'animal qui provoque de sa part une réaction quelconque, entraîne une perturbation passagère de l'accord auriculo-ventriculaire.

D'autre part, sur l'animal actif, l'afflux d'hémolymphe vers le cœur ne se fait pas de façon régulière et pourtant, à tous moments, la coordination des rythmes est parfaite, à toute accélération ou tout ralentissement de l'oreillette correspond un processus parallèle au niveau du ventricule, ainsi que CARLSON, A.J. (**46**) et RAFFO, L.F. (**220**) le signalent dans leurs observations.

Par contre, certains auteurs n'ont pas reconnu cette coordination : FOSTER, M. (**77**) par exemple signale qu'il a pu sectionner le sillon auriculo-ventriculaire sans provoquer de perturbation dans les rythmes propres de chaque étage. Cette expérience est en contradiction avec les précédentes, en ce sens qu'elle nie les effets dûs aux variations de tension consécutives à la section. Cependant, l'auteur ne parle pas de coordination auriculo-ventriculaire. Aussi est-il possible d'interpréter son expérience de la façon suivante : lorsque les rythmes auriculaire et ventriculaire sont désaccordés, toute intervention sur le sillon auriculo-ventriculaire (telle qu'une ligature ou une section) ne perturbe pas les rythmes de chacun des étages, qui restent désaccordés. Par contre, une légère tension appliquée aux extrémités du cœur fraîchement excisé peut rétablir l'accord des rythmes (WOLWEKAMP, J.R. (**269**)).

Fredericq, H. (**81**) interprète la coordination auriculo-ventriculaire normale ou expérimentale par l'influence de la tension sur la chronaxie des myocardes auriculaire et ventriculaire. Des tensions croissantes, appliquées au myocarde, font diminuer la chronaxie du tissu. Pour une certaine tension, voisine de celle existant chez l'animal normal, les chronaxies s'égalisent au niveau des deux étages, de sorte que la contraction de l'un entretient la contraction de l'autre. C'est également l'avis de Dubuisson, M. (**62**, **63**) et de Cardot, H. (**41**).

Ainsi, l'alternance des contractions auriculaire et ventriculaire ne correspond qu'à une aptitude particulière du myocarde créée par un facteur mécanique bien précis, et non pas à un dispositif anatomique de conduction existant entre les deux étages. Il n'y a pas conduction mais stimulation réciproque.

Cependant, puisque chaque étage travaille pour son propre compte, on peut se demander s'il existe dans chacun d'eux une zone préférentielle d'où partirait l'onde d'excitation, ou bien si la contraction, à la faveur des modifications chronaxiques introduites par la tension dans le myocarde, se déclenche de façon diffuse au travers de celui-ci.

Autrement dit, existe-t-il dans l'oreillette et dans le ventricule, un centre d'initiation des contractions et des voies de conduction propres à chacune de ces portions?

Il ne semble pas que le problème ait fait l'objet de recherches particulières.

Les observations de Nalepa, A. signalées précédemment, sont certainement sujettes à caution et s'inspirent très vraisemblablement du phénomène que l'on observe chez les Vertébrés, où l'onde de contraction se propage au travers du myocarde dans le même sens que le courant sanguin.

Par contre, Foster, M. et Dew-Smith, A.G. (**78**, **79**) qui nient la conduction auriculo-ventriculaire ont vu, au niveau du ventricule, la contraction naître très régulièrement près du sillon auriculo-ventriculaire et se propager sous forme d'une onde péristaltique en direction de la pointe.

Les recherches de Biedermann, W. (**21**) sur le ventricule de l'Escargot admettent implicitement l'indépendance complète des activités respectives des deux étages cardiaques.

Les expériences de cet auteur sur le ventricule isolé, montrent que les lambeaux ventriculaires prélevés et placés dans de l'hémolymphe de l'animal, sont doués d'une activité variable suivant la région ventriculaire où ils ont été prélevés, mais Biedermann, W. n'en tire aucune conclusion et n'établit aucun gradient d'automatisme pour les différents lambeaux ventriculaires étudiés. Ces conclusions auraient été intéressantes : on sait en effet que l'automatisme d'un lambeau contractile de myocarde est d'autant moins marqué qu'il est plus éloigné du *primum movens*. Aussi l'étude de cet automatisme partiel aurait-elle pu donner quelques indications précieuses quant à l'existence d'un centre d'initiation des contractions au niveau du ventricule chez l'Escargot.

L'existence d'un tel centre est niée par Eichler, W. (**65**), Jordan, H.J. (**114**), Willems, H.P.A. (**263**, **264**, **265**, **266**), Wolwekamp, H.P. (**269**) ainsi que la possibilité d'une conduction auriculo-ventriculaire chez *Helix pomatia*.

Les recherches de Cardot, H. et de ses élèves [Blanc, H., Jullien, A. et Morin, G. (**23**), Cardot, H. (**41**), Jullien, A. et Morin, G. (**118**, **194**),

Jullien, A., Morin, G. et Blanc, H. (**121**)] l'amènent également à conclure à l'absence de tout système entraîneur et conducteur auriculo-ventriculaire dans le cœur de l'Escargot.

Se rattachant au problème de la conduction intraventriculaire, on peut encore signaler les travaux de Blanc, H., Jullien, A. et Morin, G., relatifs à l'automatisme de divers lambeaux ventriculaires prélevés par des sections longitudinales, transversales ou obliques de l'organe. L'hémolymphe constitue le milieu physiologique optimum pour ces lambeaux.

Les conclusions des auteurs sont les suivantes : tous les lambeaux longitudinaux, qu'ils comprennent ou non la pointe, donnent des tracés très réguliers, ainsi que les lambeaux obliques contenant la pointe; par contre, les lambeaux privés de la pointe et ne comprenant que la base seule, présentent une activité caractérisée par l'alternance de petites et de grandes systoles.

La tension de ces portions de myocarde ventriculaire est également un facteur d'entretien de l'automatisme, au même titre que pour le cœur entier.

La fréquence relative des divers lambeaux provenant d'un même ventricule n'a pas, non plus été précisée, de sorte qu'on ne peut rien dire de l'éventualité d'un gradient d'automatisme du ventricule.

La structure du cœur de l'Escargot, remarquable par ses deux éventails de travées divergentes à partir de la base du ventricule, qui semblent constituer un agencement anatomique particulièrement favorable à une diffusion polarisée dans le sens amont-aval de l'onde d'excitation, fut à l'origine des travaux de Jullien, A. et Vairel-Blanc, H. (**141**, **142**) sur la conduction intraventriculaire d'extrasystoles déclenchées par des stimuli thermiques.

Pour permettre une bonne observation du déroulement du phénomène, il importait de ralentir les réactions de l'organe étudié. Pour cela les cœurs mis en expérience étaient prélevés quelques heures à l'avance (2 - 20 heures) et placés sur une conduite parcourue par un courant d'eau à 4°C.

Le déclenchement des extrasystoles, sur ces cœurs arrêtés ou extrêmement ralentis, était provoqué par l'approche d'un tube capillaire coudé à angle aigu et parcouru par de l'eau à 60° C.

Les conclusions obtenues par Jullien, A. et Vairel-Blanc, H. résultent de l'observation du temps qui s'écoule entre le moment de l'application du stimulus et l'apparition de la réponse du myocarde (contraction du ventricule entier).

Des excitations portées en tout point de l'oreillette provoquent la contraction totale de l'étage auriculaire.

La contraction reste limitée à l'oreillette, le ventricule restant inerte ou de fréquence inchangée au cours de ces essais.

Portées directement sur le ventricule, les mêmes excitations entraînent la contraction de l'étage entier, avec des temps de latence variables. C'est ainsi que, portées sur la base de l'organe, elles provoquent presque immédiatement la réponse du ventricule entier, tandis que lorsqu'elles atteignent la pointe il faut attendre quelques secondes pour voir se développer la contraction.

Enfin, des sections plus ou moins profondes du ventricule perturbent la trans-

mission de l'excitation. Dans le cas des sections transversales, tant que l'axe de l'organe n'est pas atteint, la transmission de l'excitation se fait à l'ensemble de l'organe. Par contre, si elles dépassent l'axe, l'extrasystole reste localisée sur la portion ventriculaire où elle a pris naissance.

Pour des sections longitudinales de la pointe du ventricule (jusqu'au tiers inférieur de l'organe), l'excitation portée sur la base entraîne la contraction de la base et celle, simultanée des deux lambeaux apicaux.

Si les sections longitudinales dépassent la limite du tiers inférieur, seules les excitations portées sur la base sont encore susceptibles d'entraîner la contraction simultanée des deux lambeaux.

Par contre, si l'on fait porter cette excitation sur l'un ou l'autre des lambeaux, la contraction suscitée se propage à l'autre moitié; on peut donc encore obtenir, dans ces conditions, une contraction de la totalité de l'étage lésé, mais il faut que le stimulus atteigne le myocarde assez haut, et non sur la pointe.

Enfin, à une date toute récente, DIVARIS, G.A. et KRIJGSMANN, B.J. (**59**), sur le cœur d'un Pulmoné africain (*Achatina zebra*) ont pu établir, par cautérisation ou réfrigération localisées du ventricule, que les contractions rythmiques naissent régulièrement au niveau de la pointe (portion distale du cœur).

Nous reviendrons ultérieurement sur les travaux de ces auteurs dont les résultats confirment ceux que nous avons nous-même obtenus.

La conduction au travers de l'oreillette ne semble pas avoir été à l'origine de recherches systématiques.

Pour résumer l'ensemble de ces recherches, la plupart des auteurs nient toute conduction auriculo-ventriculaire et l'existence d'un système d'initiation des contractions cardiaques, unique pour l'ensemble de l'organe.

Par contre, au niveau du ventricule, ils reconnaissent une zone privilégiée, d'où partent les contractions; pour certains, elle serait située au niveau de la base de l'étage, pour les autres au niveau de la pointe.

A ce centre d'initiation des contractions est associé un système de conduction intraventriculaire qui achemine le stimulus suivant le cas, dans le sens du courant, ou en sens inverse vers le reste du ventricule.

Nous apporterons plus loin, lors de l'exposé de nos propres recherches sur cette même question, quelques remarques sur la technique employée par JULLIEN, A. et VAIREL-BLANC, H. et sur leurs conclusions, qui sont en contradiction avec les nôtres.

II. — RECHERCHES PERSONNELLES SUR L'AUTOMATISME DU CŒUR *in situ*

a) *Etude de l'accord auriculo-ventriculaire sur le cœur de l'Escargot normal :*

Sur l'animal actif et à péricarde non incisé, on voit nettement les contractions cardiaques, par transparence du feuillet péricardique externe. Normalement, à une contraction auriculaire correspond une contraction ventriculaire.

Certains auteurs ont vu la contraction se propager, sous forme d'une onde péristaltique, du sommet de l'oreillette vers la pointe du ventricule. Nous avons

dit ce qu'il fallait penser de ce mode de propagation de la contraction au travers du myocarde de l'Escargot. NALEPA, A. (**201**) a même vu les grosses veines pulmonaires se contracter avant l'oreillette et attribue à ces contractions vasculaires la fonction d'empêcher le reflux de l'hémolymphe vers le poumon lors de la contraction cardiaque.

On l'a vu plus haut, on ne peut pas invoquer, chez l'Escargot, l'existence d'un système de conduction auriculo-ventriculaire pour expliquer l'accord de l'oreillette et du ventricule sur l'animal normal, en raison même de la fragilité de cet accord.

Il est possible que des phénomènes mécaniques soient à l'origine de l'alternance régulière des contractions ventriculaires et auriculaires. En particulier, la traction exercée sur le ventricule par l'oreillette au cours de sa systole pourrait servir de stimulus et donner ainsi naissance à la systole ventriculaire, et inversement.

Cette action de la tension peut être mise en évidence sur les deux étages isolés ou sur le cœur entier excisé de l'animal. Opérant sur l'oreillette seule, il est aisé de constater que l'accroissement de la tension axiale de l'organe entraîne une augmentation de la fréquence des contractions.

Sur le ventricule isolé, on observe un phénomène semblable; mais si l'accroissement est moins rapide en fonction de la tension que pour l'oreillette, les fréquences atteintes par le ventricule étiré dépassent notablement les fréquences auriculaires; de sorte qu'en portant sur un graphique de coordonnées fréquence-tension les différentes valeurs obtenues pour les deux étages cardiaques, on constate que les deux courbes relatives à chacun d'eux se coupent en un point tel que la tension des organes est égale à 3 mg.

A cette valeur de la tension axiale correspond d'ailleurs une amplitude maximale des contractions pour les deux étages.

En opérant sur le cœur entier isolé, relié à un stylet inscripteur équilibré, on constate également que les fréquences auriculaire et ventriculaire sont différentes pour des tensions croissantes, jusqu'au moment où la tension devenue suffisante, sollicite des contractions de fréquence égale pour les deux étages. A ce moment, sur le graphique, la succession des systoles auriculaires et ventriculaires est telle que l'on pourrait penser à une conduction auriculo-ventriculaire, mais il est aisé de modifier la position respective des systoles en portant un stimulus mécanique léger sur l'un des étages, ce qui provoque une extrasystole décalante pour l'étage intéressé alors que l'autre continue de fonctionner régulièrement.

Ces expériences, réalisées sur des organes « stabilisés » après leur excision, peuvent être transposées sur le cœur *in situ*.

En effet, une ligature serrée sur le sillon auriculo-ventriculaire, puis enlevée pour rétablir la circulation, ne perturbe pas l'accord auriculo-ventriculaire.

Par contre, d'autres interventions sont capables de perturber profondément les rythmes auriculaires et ventriculaires sans que le cœur et son péricarde soient altérés.

Ainsi, lorsqu'on a étalé le manteau sur la gauche de l'animal après ouverture de la cavité pulmonaire, la concordance des rythmes des deux étages se rétablit

spontanément au bout d'un temps variable (30 minutes à 1 heure). A ce moment si l'on sectionne le nerf auriculaire à son passage sur la face interne de l'organe de Bojanus, on provoque une allorythmie remarquable et persistante : les deux étages ne se réaccordent plus, bien que la jonction auriculo-ventriculaire soit intacte.

Il semble donc que l'intégrité des connexions nerveuses extracardiaques soit indispensable pour assurer sur l'animal intact l'accord auriculo-ventriculaire; le facteur mécanique n'est donc pas seul à intervenir dans la coordination de l'oreillette et du ventricule.

Comme FREDERICQ, H. (**81**), DUBUISSON, M. (**62, 63**) et CARDOT, H. (**41**) admettaient une régulation du cœur isolé par ajustement des chronaxies sous l'influence de la tension, il est possible que le désaccord permanent des rythmes, après section du nerf auriculaire, puisse trouver son explication dans le fait que le ventricule continue d'être sous l'influence du système nerveux central, tandis que l'oreillette s'en trouve libérée. Aussi, dans ces conditions, la tension du cœur en place ne doit pas avoir le même effet sur la chronaxie de la portion énervée (oreillette) que sur celle du ventricule.

b) *Rôle du cœur dans la mobilisation du milieu intérieur :*

L'appareil vasculaire de l'Escargot n'est pas un système clos, c'est-à-dire que l'hémolymphe n'est pas endiguée de façon continue dans son circuit au travers du corps de l'animal.

Du ventricule, le sang est chassé dans un *tronc aortique commun*, très court, qui se divise en deux grosses artères. L'une d'elles, l'*artère viscérale*, sur l'animal dépouillé de sa coquille, est visible sur la plus grande partie de son parcours : elle court sous l'épiderme de la face convexe de l'hépatopancréas, et remonte vers le sommet du tortillon en s'amenuisant et en donnant naissance à de nombreuses ramifications.

L'autre artère, *artère céphalique* ou *artère descendante*, est un vaisseau profond. Peu après sa naissance, elle entre en contact étroit avec le plancher musculaire de la cavité pulmonaire pour s'enfoncer ensuite dans la masse céphalopédieuse de l'animal. Il est commode, pour suivre ses ramifications, d'injecter une masse colorée (par exemple une suspension de bichromate de plomb) dans la cavité ventriculaire, d'où elle est aisément chassée dans la totalité du système artériel.

Le premier vaisseau qui part de l'artère céphalique est l'*artère utérine;* elle se détache du gros tronc vasculaire avant que celui-ci ne s'accole au nerf viscéral et longe l'utérus sur la droite de l'animal. Ses ramifications ultimes peuvent être suivies sur la poche du dard, sur le rectum et même jusqu'au rein.

Plus bas, mais sur le côté gauche de l'artère céphalique, part un vaisseau destiné aux glandes salivaires.

L'artère passe ensuite dans la masse ganglionnaire sous-œsophagienne, se replie vers le bas et revient en arrière en restant dans le plan sagittal de l'animal.

A son point de rebroussement, dans la région céphalique, elle émet encore quelques petites artères (*artère buccale, artère cérébrale*), et dans sa portion récur-

rente, elle envoie quelques ramifications paires, destinées à la musculature du pied.

Ces ramifications se prolongent par un système capillaire très riche, étudié par WEDL, C. (**26**) et NALEPA, A. (**201**) ; sa disposition varie d'un animal à l'autre. Le diamètre de ces capillaires atteint 6 μ et ils sont limités par un endothélium très net [BRUCKE, E. Th. von (**36**)].

Ils sont en relation entr'eux d'une part, pour former un riche réseau, et avec des cavités ramifiées qui s'étendent dans le tissu conjonctif d'autre part. Ces cavités donnent au pied et au bord du manteau un aspect de tissu caverneux, gonflable par l'afflux de l'hémolymphe, tandis que dans les autres régions, les tissus restent inextensibles.

De ces cavités, l'hémolymphe arrive dans les grands sinus sanguins qui entourent les viscères et de là, les *vasa afferentia* (vaisseaux afférents du poumon) qui se prolongent par la *veine circulaire* à la limite du bourrelet et du poumon, la ramènent par un système vasculaire défini, vers la surface respiratoire du manteau.

Les capillaires palléaux, pas plus que les lacunes, ne sont limités par un endothélium [MARCEAU, F. (**179**), BRUCKE, E. Th. von (**36**)].

La veine pulmonaire résulte de la réunion des différents capillaires palléaux; elle va déboucher dans l'oreillette.

A côté du système capillaire respiratoire du poumon, existe également un système capillaire nutritif pulmonaire, qui assure au poumon et au rein l'apport nutritif nécessaire [MILNE-EDWARDS, H. (**186**), NALEPA, A. (**201**)].

Le sang de l'Escargot traverse donc deux systèmes capillaires avant de revenir au cœur : le système capillaire artériel et le système capillaire pulmonaire.

L'oreillette reçoit l'hémolymphe par l'intermédiaire de la veine pulmonaire. Elle n'est séparée du réseau capillaire pulmonaire par aucun système de valvules et tout reflux sanguin vers le manteau est normalement empêché par l'arrivée continue d'hémolymphe vers le cœur.

Le ventricule est séparé de l'oreillette par des valvules auriculo-ventriculaires. De plus, tout reflux d'hémolymphe des vaisseaux efférents vers le cœur est également rendu impossible par l'existence de valvules au niveau de la pointe du ventricule.

La position fonctionnelle de l'animal joue un rôle variable sur l'arrivée d'hémolymphe au cœur. Si on maintient l'Escargot, le manteau au-dessus du cœur, l'hémolymphe, au moment du relâchement diastolique de l'oreillette, s'écoule rapidement des veines pulmonaires dans la cavité auriculaire qui se dilate et cette évacuation rapide de l'hémolymphe se traduit par un affaissement de la paroi vasculaire.

Au contraire, lorsque le cœur est placé au-dessus du niveau des poumons, la paroi des veines pulmonaires reste distendue de façon continue par l'hémolymphe et le phénomène d'affaissement des vaisseaux n'existe plus.

Aussi peut-on se demander si le phénomène de pulsation des veines pulmonaires, observé par NALEPA, A. ne correspond pas à ce phénomène d'origine purement hydrodynamique.

On l'a vu, le cœur de l'Escargot doit assurer la propulsion de l'hémolymphe au travers de deux systèmes capillaires, ce qui pour un organe aussi faible que le ventricule (seul efficace dans la mobilisation du liquide par la présence de ses deux systèmes de valvules) représente une résistance considérable.

Aussi peut-on se demander si à côté du cœur, moteur principal, il n'existerait pas un dispositif adjuvant, ou pour reprendre un terme consacré, n'y aurait-il pas de cœurs périphériques chez l'Escargot.

Seules des expériences de cardiectomies partielles ou totales peuvent apporter des indications sur ce point.

1) *Techniques utilisées :*

Au cours de nos recherches nous avons étudié l'influence des suppressions de l'oreillette ou du ventricule, ou du cœur entier, sur la survie et le comportement de l'animal. La continuité du système circulatoire de l'animal est rétablie en remplaçant l'étage supprimé par un tube de verre fin, olivé à ses deux extrémités et maintenu en place par des ligatures serrées sur les lambeaux restants de myocarde [JULLIEN, A., RIPPLINGER, J., GUYON, M. et CARDOT, J. (**132**)]. Les expériences suivantes ort été réalisées sur des animaux hibernants et épiphragmés.

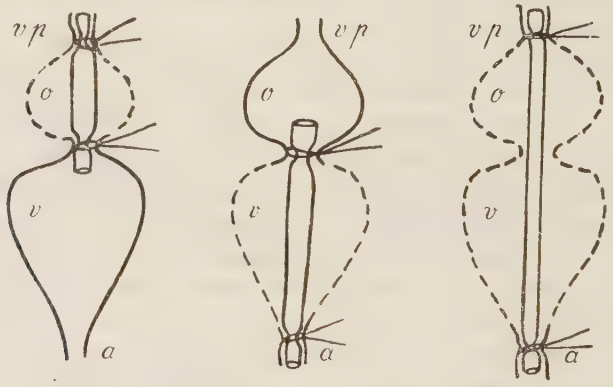

FIGURE 7. — Cardiectomies partielles ou totales chez *Helix pomatia*. A gauche : le ventricule est seul fonctionnel; au milieu : l'oreillette est seule fonctionnelle; à droite : le cœur entier est hors circuit. *vp*, veine pulmonaire; *o*, oreillette; *v*, ventricule; *a*, aorte.

La technique utilisée consistait à pratiquer une large ouverture de la coquille au niveau du cœur, en évitant de léser le manteau et de provoquer des hémorragies. La veine pulmonaire est comprimée en amont de son débouché dans l'oreillette, de façon à limiter le plus possible les pertes d'hémolymphe pendant toute la durée de l'opération au niveau du cœur.

Le péricarde est incisé et deux ligatures d'attente sont passées aux deux extrémités de l'oreillette ou du ventricule — suivant l'étage que l'on cherche à supprimer — ou du cœur entier dans le cas des cardiectomies totales.

La longueur des tubes qui doivent remplacer les portions de myocarde excisées est déterminée par tâtonnement : de 3 à 4 mm pour l'oreillette, 6 à 7 pour le ventricule, et de 10 à 11 pour le cœur entier.

Ces tubes sont introduits, par une incision de la paroi du myocarde, dans la cavité de l'étage qu'ils doivent remplacer. Dans un premier temps, on pousse le tube dans un sens, vers le ventricule ou l'oreillette, jusqu'à ce qu'il soit entièrement passé à l'intérieur de l'organe, puis on le refait glisser en sens inverse, dans l'axe du cœur, de façon à amener en place les extrémités olivées du tube. Les ligatures sont alors serrées, et le lambeau de tissu cardiaque compris entre elles est excisé (fig. 7).

2) *Résultats*

α) *Suppression de l'oreillette seule :*

Lorsque le ventricule est seul fonctionnel, il arrive que l'opération n'interrompe pas son automatisme; aussi la circulation se rétablit-elle immédiatement après l'intervention. Dans d'autres cas, par contre, la suppression de l'oreillette entraîne une inhibition du ventricule qui peut aller jusqu'à 2 heures 1/2. Les exemplaires chez qui l'automatisme de l'étage restant s'est étalé sur la plus grande période sont ceux où le ventricule s'est remis à battre immédiatement après l'intervention. La durée maxima de fonctionnement du ventricule, dans ces conditions, a été de 4 jours.

Par contre, chez les animaux à cœur initialement inhibé, l'automatisme ventriculaire se rétablit d'abord au niveau de la pointe avant de s'étendre à l'étage entier, et le fonctionnement de l'organe a toujours été inférieur à 4 jours.

La fréquence des contractions ventriculaires sur des animaux ainsi préparés varie, d'une part avec les individus, et avec la température externe d'autre part. Comme sur le cœur normal, on observe une certaine arythmie : les systoles apparaissent en groupes de 10 à 20, séparés par des pauses diastoliques plus ou moins longues.

L'arrêt définitif du ventricule ne correspond pas à la mort de l'animal. Jusqu'au huitième jour qui suit l'opération, l'Escargot manifeste des réactions qui se traduisent par des extensions ou des rétractions du pied. L'aspect général de l'animal est normal, la teinte du pied reste claire. Au cours de cette période, la rétraction du pied est capable de provoquer l'afflux du sang dans le ventricule, qui, distendu, répond par une ou deux contractions très lentes.

Au bout du quatrième jour, le ventricule, relié au stylet inscripteur d'un myographe, répond encore par un certain nombre de systoles à l'excitation mécanique que représente pour lui la tension du levier.

Au-delà de ce laps de temps, les excitations mécaniques ou électriques ne provoquent plus la moindre réponse clonique (contraction rapide du myocarde); par contre l'enregistrement des réponses du ventricule aux excitations mentionnées, montre que chaque stimulation est suivie d'une lente variation de tonus (variation tonotrope positive). L'atropine provoque le relâchement du myocarde. La circulation, à partir de ce moment, se fait de plus en plus lentement. On peut s'en assurer en injectant dans le pied de l'animal une solution de bleu de méthylène; on voit alors la coloration progresser dans les vaisseaux du manteau, assez rapidement pour qu'on puisse affirmer qu'il ne s'agit pas là d'un simple phénomène de diffusion.

β) *Suppression du ventricule :*

Dans le cas où l'oreillette est seule fonctionnelle, les principales différences qui apparaissent d'abord sont : la haute fréquence des contractions du lambeau restant, et la longue période de fonctionnement de l'oreillette. En effet, alors que la fréquence des contractions était initialement (dans les premières 24 heures) aux environs de 30 contractions/minute, au bout de 36 heures, elle était encore de 28. L'amplitude des contractions auriculaires est également supérieure à la normale. Quant à la durée de cet automatisme rémanent, elle peut atteindre 5 jours. La zone auriculaire qui présente les ultimes contractions se situe au niveau du débouché de la veine pulmonaire dans l'oreillette.

Remarque :

On constate que les portions de cœur d'Escargot, conservées au cours des différents types d'intervention, se comportent absolument comme si elles avaient été isolées; la durée de survie des étages considérés n'est pas supérieure à celle qu'ils auraient eu s'ils avaient été complètement excisés et conservés dans un milieu physiologique. Il est difficile, dans ces conditions expérimentales, de donner une raison valable à cette perte d'automatisme, puisque la plupart des connexions centrales trophiques ont été conservées au cours de l'opération.

γ) *Suppression du cœur entier :*

Dans le cas de la substitution totale du cœur par un tube de verre, nous étions obligés de laisser subsister un petit lambeau de myocarde auriculaire, à la naissance de la veine pulmonaire, ceci pour permettre la mise en place de la ligature. C'est cette zone qui s'est montrée la plus automatique et sa durée de fonctionnement a été de 6 jours après l'intervention. La pointe du ventricule présentait également des contractions régulières mais moins fréquentes.

De ces expériences, il ressort que le cœur est un organe essentiel : sa suppression entraîne la mort de l'animal à plus ou moins bref délai. Mais il est bien certain qu'il n'assure pas à lui seul la mise en mouvement de la totalité de la masse sanguine; en particulier, lorsque les lambeaux cardiaques ont cessé toute activité, l'hémolymphe continue de circuler.

c) *Rôle des mouvements respiratoires sur la circulation de l'hémolymphe :*

Le problème intéressant consistait à trouver les autres facteurs susceptibles de mobiliser le milieu intérieur.

Cette question de la suppléance, par un autre mécanisme, à l'insuffisance cardiaque des Mollusques n'est pas nouvelle.

Déjà, chez les Gastéropodes Prosobranches du type *Haliotis*, FLEURE, H.J. (**73**), après avoir constaté que l'aorte entourait le bulbe buccal de l'animal, supposait que les mouvements réguliers de cet organe contribuaient à la propulsion du sang.

Nos propres observations nous ont montré que chez les Pulmonés, et plus particulièrement chez *Helix*, la contraction des masses musculaires et surtout les mouvements respiratoires jouaient un rôle de premier plan dans la physiologie de la circulation de l'hémolymphe [JULLIEN, A. et RIPPLINGER, J. (**130**)].

En observant le cœur par une fenêtre pratiquée dans la coquille au niveau de la région cardiaque, on voit qu'il n'est pas rempli continuellement par l'hémolymphe; à côté de périodes où l'organe est tellement distendu que ses parois sont fortement appliquées contre les feuillets péricardiques, il en est d'autres où le cœur est totalement vide. L'introduction, dans la veine pulmonaire, d'un petit manomètre à air libre, permet de noter les fluctuations de pression qui vont de pair avec l'état de réplétion du cœur. La pression sanguine qui, habituellement est de 4 cm d'eau dans ce vaisseau, tombe périodiquement vers 2 cm pour remonter en quelques secondes à 8-10 cm d'eau (valeurs proches de celles indiquées par SCHWARZKOPPF, J. **(239)**).

De toute évidence, le cœur n'est pas à l'origine de ces variations de pression qui traduisent une mobilisation extracardiaque de l'hémolymphe.

Il est aisé de constater que les périodes d'afflux d'hémolymphe au cœur coïncident régulièrement avec les mouvements d'ouverture du pneumostome. Il apparaît donc que ce phénomène circulatoire est étroitement lié aux mouvements respiratoires de l'animal.

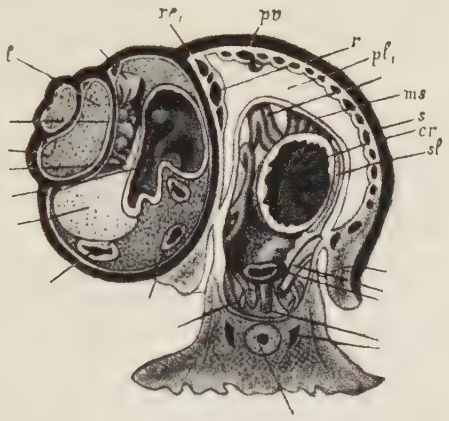

FIGURE 8. — Coupe transversale de l'Escargot, passant un peu en avant de la columelle (d'après HOWES).

cr	jabot.
l	hépatopancréas.
ms	plancher de la cavité pulmonaire.
pl	cavité pulmonaire.
pv	vaisseaux pulmonaires afférents.
r	rectum.
re	canal rénal.
s	coquille.
sl	glande salivaire.

D'après nos observations, la respiration de l'Escargot ne constitue pas un processus passif au cours duquel les échanges gazeux se feraient par diffusion. A chaque ouverture du pneumostome correspond une expiration, suivie d'une inspiration. Contrairement à l'opinion émise par VOGT, C. et YUNG, E. **(257)**, le manteau n'a aucune part active dans le phénomène respiratoire. En effet, il tapisse de façon continue le dernier tour de spire de la coquille (fig. 8). L'air

ne pénètre jamais entre l'animal et son test, et le décollement du manteau ne se produit que pour des raisons purement accidentelles, telles que des perforations importantes de la coquille, ce qui pour l'animal, équivaut à un pneumothorax.

Sur un Escargot dépouillé de sa coquille, le manteau s'affaisse sur le plancher de la cavité pulmonaire et épouse exactement sa forme. Il est donc aisé de suivre tous les mouvements du plancher sur un animal préparé de cette façon. On constate, dans ces conditions, qu'à chaque ouverture du pneumostome, correspondent successivement une élévation, puis un abaissement du plancher.

Cette surrection du plancher est due au relâchement tonique de la membrane musculaire qui le constitue et à l'expansion, vers l'extérieur, des viscères qu'il recouvre. L'effacement de cette hernie se fait par un processus inverse, c'est-à-dire une mise en tension des fibres musculaires du plancher, qui refoule en place les différents organes.

La figure 8 montre la position normale du manteau et le volume que peut occuper, dans la chambre pulmonaire, la poche formée par la masse viscérale. Par conséquent, sur l'animal normal, dans le premier temps de l'acte respiratoire, il y a diminution du volume de la cavité pulmonaire, donc expiration, tandis que dans le deuxième temps, il y a augmentation du même volume, donc inspiration.

En tant que limite des grands sinus périviscéraux, le plancher, par ses mouvements, leur imprime des variations de capacité qui se traduisent par les effets circulatoires que nous avons mentionnés plus haut. C'est ainsi que l'expiration (qui correspond à une diminution de la cavité pulmonaire) est accompagnée d'une augmentation de volume des sinus périviscéraux. L'hémolymphe engagée dans les vaisseaux afférents au poumon, trouve dans les espaces qui se forment une voie d'écoulement de moindre résistance que les capillaires pulmonaires, et reflue donc du poumon vers le sinus.

Le phénomène devient visible lorsqu'on vient d'injecter un peu d'encre de Chine dans le pied de l'animal. Les grains noirs, avant d'être fixés par les cellules granulopexiques de l'animal, sont entraînés par l'hémolymphe; il est facile de les suivre par transparence dans les vaisseaux pulmonaires. Au moment de l'expiration, en particulier, ils passent tous du poumon vers la région viscérale, par la veine circulaire qu'ils suivent de façon antidromique. Il est évident que l'hémolymphe qui a déjà traversé le système capillaire pulmonaire, ne peut franchir aisément cet obstacle pour revenir en arrière; aussi, n'est-ce qu'une diminution de pression que l'on enregistre dans la veine pulmonaire.

Lors de l'inspiration, c'est un phénomène tout à fait inverse qui se passe. Les sinus périviscéraux, par la mise en tension du plancher, se trouvent réduits et l'hémolymphe qui les remplissait est chassée vers la périphérie, en l'occurrence, vers le poumon. D'où l'afflux de liquide au cœur et l'augmentation de pression constatée dans la veine pulmonaire.

Les relations entre respiration et circulation peuvent se traduire par le schéma de la figure 9.

Un système clos représente l'appareil circulatoire sur lequel le cœur C reçoit

l'hémolymphe venue du manteau par la veine pulmonaire *Vp*, et la renvoie vers les sinus veineux élastiques (représentés ici par une membrane élastique) en relation directe avec les sinus périviscéraux (*Sin. prv*). Ceux-ci, situés immédiatement sous le plancher (représenté par la capsule flottant sur du mercure) peuvent varier de volume. L'augmentation de leur capacité correspond à un soulèvement du plancher, qui réduit la cavité pulmonaire (expiration). Comme la veine circulaire est en communication très large avec ces sinus périviscéraux, l'hémolymphe du poumon y revient sans difficultés. Lorsque le plancher s'abaisse, l'hémolymphe reflue vers la réserve élastique des sinus veineux et vers le poumon. Au point de vue respiratoire, il y a accroissement du volume de la cavité pulmonaire.

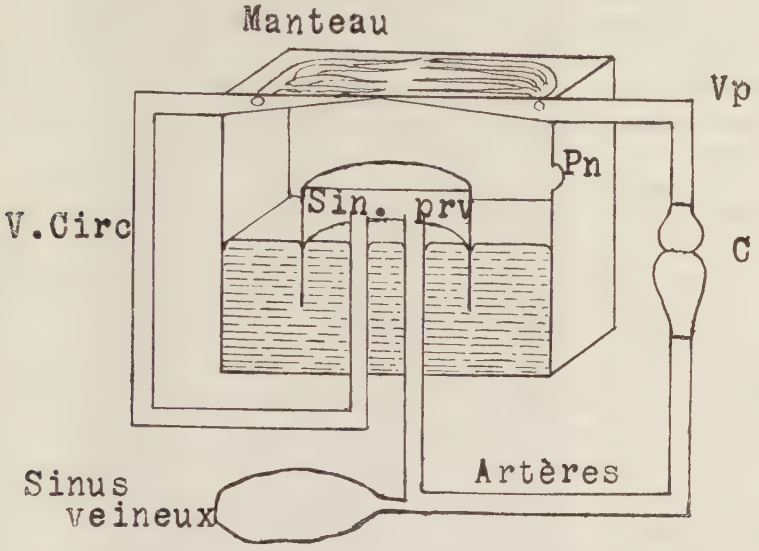

FIGURE 9. — Schéma montrant les relations existant entre les systèmes respiratoire et circulatoire de l'Escargot.

C	cœur.
Pn	pneumostome.
Sin. prv	sinus périviscéraux.
V. circ	veine circulaire.
Vp	veine pulmonaire.

Pour résumer, on peut dire que le cœur de l'Escargot, composé d'une oreillette et d'un ventricule, n'est pas le seul organe de mobilisation du milieu intérieur. Il est aidé dans ses fonctions par les mouvements respiratoires de l'animal qui modifient la capacité des sinus périviscéraux en hémolymphe.

Tout se passe comme si l'Escargot possédait deux cœurs : un cœur artériel, chargé de propulser l'hémolymphe au travers des capillaires de l'organisme, et un cœur veineux, représenté par les sinus périviscéraux, chargé de chasser le sang au travers des capillaires pulmonaires.

C. — *PHYSIOLOGIE DE L'INNERVATION EXTRINSEQUE DU CŒUR DE L'ESCARGOT* (HELIX POMATIA)

I. — HISTORIQUE

Chez les Vertébrés, l'existence des pneumogastriques en tant que nerfs extracardiaques est connue depuis longtemps. Leur action sur le cœur avait été entrevue par WILLIS et LOWER, vers la fin du XVII[e] siècle, qui avaient observé que la section de ces nerfs provoquait un renforcement des contractions cardiaques, mais attribuèrent cette action à un affaiblissement de l'organe, et à des perturbations de ses contractions par suite de la privation de ses nerfs (supposés moteurs à cette époque).

Ce n'est qu'en 1838, par VOLKMANN, A.W. (**258**) et surtout en 1845 par les frères WEBER, E.H. et E. (**259**, **260**), que fut mise en évidence l'action inhibitrice du pneumogastrique au niveau du cœur, par suite de la faradisation de ses noyaux d'origine, et ce n'est qu'en 1847, après l'introduction de la méthode graphique par LUDWIG, en physiologie, qu'il ne fit plus de doutes pour personne que l'arrêt cardiaque se faisait en diastole.

Chez les Invertébrés, il faut attendre 1849 pour voir la première mention de nerfs extrinsèques du cœur chez *Terredo* [QUATREFAGES, M.A. DE (**219**)]; puis en 1852 HANCOCK, A. et EMBLETON, D. (**98**) en décrivent chez *Doris tuberculata;* en 1868, LEMOINE (**162**) en trouve chez *Astacus fluviatilis*.

Les premières recherches portant sur l'innervation du cœur de l'Escargot sont dues à DARWIN, F. (**57**) et datent de 1876. Dans ce travail, il nie l'existence de système nerveux cardiaque extrinsèque chez *Helix pomatia* et classe parmi les formations conjonctives les éléments apolaires qu'il rencontre dans le myocarde.

FOSTER, M. (**77**) et FOSTER, M. et DEW-SMITH, A.G. (**79**) se rattachent également à la façon de voir de DARWIN, aussi bien en ce qui concerne l'éventualité d'une innervation extrinsèque qu'en ce qui concerne ces éléments apolaires qu'ils retrouvent également dans le cœur. L'autorité de leur prédécesseur d'une part, et leur conception de l'automatisme cardiaque de l'Escargot, d'autre part, leur semblent des raisons suffisantes pour rejeter les conclusions de DOGIEL, J. (**61**), favorables à une régulation nerveuse des contractions cardiaques. Pour FOSTER, M. et DEW-SMITH, A.G., l'Escargot n'a pas besoin de système cardio-régulateur. Le rythme et l'amplitude des contractions de l'organe étant fonction de son état de réplétion, tous les phénomènes d'inhibition observés *in vivo* peuvent être rapportés à des perturbations, dues aux contractions de la musculature de l'animal, de l'arrivée de l'hémolymphe au cœur ou de son écoulement vers la périphérie. Tout au plus ces auteurs reconnaissent-ils la possibilité d'un centre ventriculo-inhibiteur situé dans l'oreillette, dont l'excitation faradique entraîne l'arrêt en diastole du ventricule.

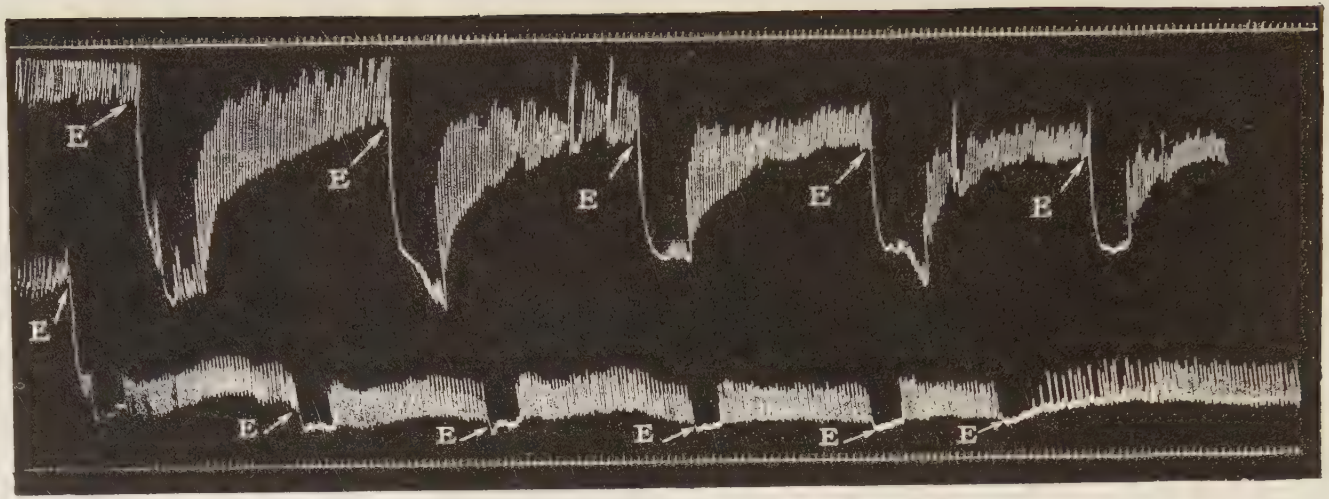

FIGURE 10. — Effets de l'excitation faradique du nerf viscéral sur le ventricule et l'oreillette de l'Escargot normal. Observer l'effet tonotrope puissant (relâchement) qui accompagne l'arrêt des organes.
(*Graphique emprunté à* A. JULLIEN).

NALEPA, A. (**201**) est le premier à décrire une innervation extrinsèque du cœur chez les Stylommatophores, et sa description est confirmée, chez *Helix*, par celle qu'en donne RANSOM, W.B. (**221**).

Celui-ci semble avoir été le premier qui ait observé les effets de l'excitation faradique du nerf viscéral au niveau du cœur; à côté d'une contraction du rein et du péricarde, il signale un arrêt diastolique du cœur et, à la fin de l'excitation, un renforcement de l'activité cardiaque. De plus, il constate également que le nerf qui pénètre par l'aorte agit plus intensément sur le ventricule que sur l'oreillette, laquelle semble influencée surtout par le nerf qui lui arrive par son sommet.

Ces données sont entièrement confirmées par JUNG, E. (**149**) et par CARLSON, A.J. (**47**).

En plus l'action inhibitrice, CARLSON, A.J. observa plusieurs fois, pour des excitations d'intensité plus forte que celles qui provoquaient l'inhibition du cœur, une accélération de l'organe. D'après ses recherches, les fibres accélératrices arriveraient au ventricule uniquement par son extrémité aortique, tandis que les fibres inhibitrices lui arriveraient, et par la pointe, et en partie par l'oreillette. Quant à l'étage auriculaire, il serait également contrôlé par des fibres inhibitrices et accélératrices; le seuil de ces dernières serait beaucoup plus élevé que celui des fibres inhibitrices.

En 1940, BONNET, A. et JULLIEN, A. (**25**) reprennent ces expériences chez *Helix pomatia* et précisent certains points de l'inhibition : l'arrêt cardiaque (*effet chronotrope négatif*) est accompagné d'un relâchement du myocarde (*effet tonotrope négatif*) (fig. 10). Tandis que CARLSON, A.J. pensait que la reprise des contractions, qui a lieu pendant des excitations de longue durée, était due à l'effet cardio-stimulant du levier inscripteur exerçant une traction longitudinale continue du cœur, pour BONNET, A. et JULLIEN, A. l'échappement est une conséquence de l'affaiblissement du système cardio-inhibiteur, affaiblissement qui résulte de la section des filets inhibiteurs arrivant au ventricule par la voie auriculaire.

L'inhibition observée au niveau de l'oreillette est plus profonde et de plus longue durée que celle observée au niveau du ventricule.

A la fin de la stimulation faradique du nerf viscéral, le tonus de l'organe remonte à son niveau initial. Pour des inhibitions de courte durée, sur la ligne ascendante, s'inscrit une reprise immédiate des contractions, sur un mode plus rapide et plus ample que le mode normal, et ceci pour un certain temps.

Enfin, en 1940, VAN TIEL, N. (**246**, **247**) met en évidence, chez *Helix pomatia*, l'existence de deux centres cardio-régulateurs dans le ganglion viscéral; l'un, cardio-inhibiteur, l'autre cardio-accélérateur, tous deux contrôlés dans leur action par un troisième centre frénateur situé dans les ganglions cérébroïdes.

Normalement, le centre cardio-inhibiteur aurait le seuil d'excitabilité le plus bas.

II. — RECHERCHES PERSONNELLES

a) Techniques opératoires :

Pour étudier l'influence de l'excitation faradique du nerf viscéral sur le cœur de l'Escargot, l'animal était préparé de la façon suivante : le nerf viscéral est mis à nu suivant la technique précédemment décrite. On atteint le cœur par la face interne du manteau qui est détaché de ses insertions et étalé sur la gauche de l'animal (fig. 3). Le feuillet péricardique interne est incisé longitudinalement, sur toute sa longueur; lorsqu'on veut étudier les réactions auriculaires, il faut éviter de l'inciser jusqu'à la veine pulmonaire, car l'oreillette vient s'insérer sur sa face profonde, et de plus, quelques filets nerveux arrivent à l'étage auriculaire en passant dans l'épaisseur du feuillet péricardique interne. Il faut également avoir soin en incisant le péricarde de ne pas blesser le myocarde sous-jacent.

Ce premier temps accompli, deux montages sont possibles. Ou bien on suspend le ventricule (ou l'oreillette) à un levier inscripteur, ou bien on monte l'un ou l'autre étage sur une canule de perfusion, modèle de Straub.

1) *Méthode de suspension*

Dans le premier cas, on sectionne le cœur au niveau du sillon auriculo-ventriculaire, et on relie le stylet inscripteur à l'étage étudié au moyen d'une pince serre-fine que l'on place au niveau de la section. Il est bon, lorsqu'on veut étudier l'un des deux étages, de faire porter la section sur le myocarde de l'autre, à 1 ou 2 mm du sillon auriculo-ventriculaire, de sorte qu'il reste un petit lambeau de tissu de l'étage voisin sur lequel on posera la serre-fine. De cette façon, les perturbations provoquées par cette intervention restent localisées sur une zone bien limitée et ne franchissent jamais le sillon auriculo-ventriculaire.

On charge, si cela est nécessaire, le levier amplificateur au moyen d'un petit cavalier, jusqu'à ce que l'organe en expérience soit soulevé à la verticale et légèrement tendu.

2) *Méthode de perfusion*

Dans le deuxième cas, une ligature d'attente est posée sur le sillon auriculo-ventriculaire. On pratique alors, dans la paroi de l'étage auriculaire, une incision en bec de flûte par où on introduit l'extrémité olivée d'une canule de Straub que l'on pousse délicatement jusqu'à l'intérieur de la cavité ventriculaire.

Le temps délicat de l'opération consiste précisément dans le franchissement du sillon auriculo-ventriculaire par l'olive de la canule. Celle-ci ne doit rencontrer aucune résistance sur son chemin pour pénétrer dans le ventricule. En cherchant à forcer le passage, on risque de déchirer les fins tissus de la jonction auriculo-ventriculaire, et l'étanchéité de la préparation, témoin d'un montage correct, serait compromise irrémédiablement.

L'extrémité olivée de la canule, comme nous avons pu le constater au cours de nombreuses expériences menées sur le cœur de l'Escargot, doit, bien que fine, posséder une lumière suffisamment grande pour permettre un remplissage et une

vidange complets du ventricule au cours de chacune de ses systoles. Les dimensions optimales de l'extrémité de la canule de Straub se situent aux environs de 1 mm de diamètre externe, et de 0,75 mm de diamètre interne.

Lorsque la canule est en place, on serre modérément la ligature sur le sillon, de façon à ne pas écraser les tissus sous-jacents, mais suffisamment pour empêcher tout reflux de liquide du ventricule vers l'oreillette.

Le lambeau auriculaire restant est sectionné, et la canule, maintenue sur un bloc de pâte à modeler, sous une inclinaison d'environ 45°, imprime au ventricule une légère tension axiale, de façon que la face inférieure de l'organe ne repose pas dans la couche de mucus et d'hémolymphe qui recouvre le poumon.

On charge la canule en introduisant, dans son réservoir, une quantité de Ringer telle que la hauteur de liquide soit de 1 cm environ au-dessus du cœur.

Sous l'influence de la tension axiale et de la distension imprimée au myocarde par la solution physiologique de la canule, le ventricule prend un rythme ample, rapide et régulier, traduisant l'excellence des nouvelles conditions qui lui sont imposées.

L'inclinaison de la canule, imprimant au ventricule une position fortement écartée de sa direction normale, arrive, en coudant l'extrémité apicale de l'organe, à empêcher toute perte de liquide vers l'organisme, ce qui rend inutile la pose d'une ligature sur la naissance de l'aorte. Par ce montage, les nerfs afférents au ventricule, nullement altérés par des interventions mécaniques, conservent leur valeur fonctionnelle intacte.

On peut, par un procédé calqué sur celui qui vient d'être décrit, monter l'oreillette sur la canule de Straub, en introduisant l'extrémité olivée de celle-ci par une boutonnière pratiquée dans la paroi ventriculaire. La quantité de liquide à introduire dans le réservoir de la canule est relativement faible, en raison même de la fragilité des parois auriculaires; de plus, même dans les montages les mieux réussis, le liquide se perd au cours de l'expérience par suite de la présence d'une veine rénale qui débouche directement dans l'oreillette.

Les contractions ventriculaires ou auriculaires de ces préparations sont enregistrées par un levier inscripteur léger dont la pince serre-fine saisit la couche épicardique de l'organe, à mi-hauteur de l'étage.

Cette deuxième technique opératoire a surtout été utilisée au cours des recherches sur la médiation chimique des influx arrivant au cœur par la voie du nerf viscéral, et au cours de quelques essais pharmacodynamiques.

Le nerf viscéral, séparé de l'artère céphalique par dilacération des brides conjonctives qui le retenaient, est chargé sur un excitateur bipolaire réuni aux bornes du secondaire d'un chariot de Du Bois-Reymond. L'excitateur est maintenu en place, sur un bloc de pâte à modeler.

Dans l'un ou l'autre montage, avant de procéder aux expériences proprement dites, on laisse reposer la préparation pendant quelques minutes. Les contractions que l'on obtient au début de l'enregistrement peuvent être d'amplitude variable,

mais souvent, après la première série de chocs d'induction portée sur le nerf viscéral, les systoles deviennent toutes identiques.

b) Résultats obtenus sur le ventricule suspendu au levier inscripteur.

1) *Réponses du cœur normal à la faradisation du nerf viscéral chez l'animal actif.*

L'excitation du nerf viscéral par une série de chocs d'intensité modérée (écartement des bobines 5 cm) provoque l'arrêt immédiat des systoles, accompagné d'un relâchement plus ou moins accentué de l'organe. Tel est le phénomène que l'on observe le plus habituellement (voir fig. 10).

Une excitation unique (un seul choc d'induction) n'est pas suffisante pour déclencher les effets habituels d'inhibition. Par contre, des séries de chocs, même très courtes (par exemple une demi-seconde) peuvent entraîner l'arrêt diastolique du ventricule pendant une durée équivalente à plusieurs systoles.

La chute de tonus observée est bien due à une réaction du myocarde et non à des mouvements des régions voisines. Si l'excitation faradique se prolonge pendant quelques secondes, les contractions du ventricule peuvent réapparaître sur un mode inotrope et chronotrope négatifs (*phénomène de l'échappement*).

L'arrêt du ventricule, dans quelques cas particulièrement favorables, peut durer plus d'une dizaine de secondes.

A l'inverse de ce qui se passe chez les Vertébrés, où le cœur présente très souvent une *systole inévitable* avant l'inhibition proprement dite, chez l'Escargot, l'action du nerf viscéral atteint les contractions ventriculaires ou auriculaires en n'importe quel point de leur décours : si les influx cardio-inhibiteurs arrivent à l'organe durant sa systolisation, celle-ci est incomplète : l'amplitude de la contraction est diminuée et le cœur s'arrête ensuite.

Le phénomène tonotrope négatif est souvent très prononcé au début de l'excitation, mais le niveau tonique du myocarde ne tarde pas à remonter jusqu'à atteindre ou même dépasser sa valeur initiale.

Lorsque cesse l'excitation, le cœur reprend son état tonique initial; les contractions repartent souvent sur un rythme plus rapide que le rythme normal et, de plus, elles sont toujours plus amples.

En gros, ces observations sont également valables pour l'oreillette. Il est cependant à noter que l'inhibition est plus facile à obtenir au niveau de cet étage qu'au niveau du ventricule, et, en outre, qu'elle est de plus longue durée.

Le type de réaction ventriculaire décrit ci-dessus et consécutif à l'excitation du nerf viscéral peut, dans certains cas, faire place à d'autres processus d'inhibition. La faradisation du nerf peut ne pas entraîner l'arrêt complet de l'organe, mais simplement des modifications du caractère des systoles. Il convient donc de distinguer plusieurs modes d'inhibition cardiaque : ou bien les systoles conservent un rythme et une amplitude très irréguliers (figure 11, tracé II); ou bien elles restent irrégulières en amplitude, mais leur rythme, d'abord lent, va en s'accélérant; dans ce cas, deux diastoles successives ont sensiblement même durée, et la reprise des contractions a un aspect de régularité qui tranche nettement sur le caractère de la reprise précédemment décrite (figure 11, tracé I); ou bien

les modifications de fréquence sont peu sensibles et la seule action vagale enregistrée consiste en un effet inotrope négatif, sans modifications du rythme cardiaque (figure 11, tracé III).

A côté de ces phénomènes qui rentrent dans le cadre de l'inhibition vagale, il en est d'autres qui s'en éloignent franchement. C'est ainsi que l'excitation du nerf viscéral peut être marquée au niveau du cœur par un renforcement de l'amplitude des contractions et parfois même, par une accélération des systoles (fig. 12).

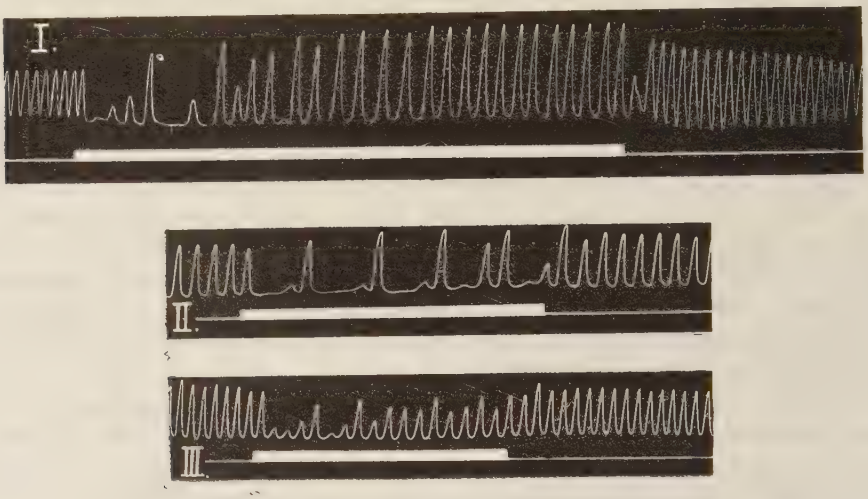

FIGURE 11. — Différentes modalités de l'inhibition cardiaque chez d'Escargot, à la suite de l'excitation du nerf viscéral.

Tracé I. — La faradisation du nerf entraîne tout d'abord une inhibition des systoles. Celles-ci ne tardent pas à reparaître, irrégulièrement espacées d'abord; puis un rythme lent, régulier, se rétablit. Les systoles ont une amplitude augmentée par rapport à la normale.

Tracé II. — L'inhibition de l'activité rythmique est totale. Les systoles qui marquent l'échappement ne présentent aucun caractère de régularité. L'effet chronotrope négatif est très marqué.

Tracé III. — L'action inhibitrice ne se traduit que par un effet inotrope négatif, non accompagné d'effet chronotrope négatif.

Ces dernières modifications du comportement habituel du cœur au cours de l'action du nerf viscéral seront étudiées dans les prochaines lignes. Elles semblent dépendre de la mise en jeu de facteurs multiples : la saison, la tension du myocarde, de l'intervention de fibres cardio-accélératrices, etc...

2) *Types de fibres nerveuses participant à l'action vagale :*

L'excitation du nerf viscéral, chez l'Escargot, est donc suivie dans les conditions habituelles, au niveau du cœur, d'effets sensiblement identiques à ceux que l'on observe chez les Vertébrés à la suite de l'excitation du rameau cardiaque du pneumogastrique; elle est marquée par l'apparition d'effets chronotrope, inotrope et tonotrope négatifs.

Comme pour les Vertébrés, il se pose ici un problème qui, à notre connaissance, n'est guère sorti de son domaine théorique : c'est celui relatif à l'unicité

ou à la pluralité de l'action vagale; autrement dit, les différents effets décrits correspondent-ils à des types différents de fibres nerveuses, ou bien dépendent-ils tous du même nerf.

Certes, on sait que la qualité de l'influx nerveux reste identique à elle-même d'un nerf à l'autre, et que seul l'organe effecteur introduit une apparence d'hétérogénéité en traduisant de la façon qui lui est propre, l'influx qui lui est amené par voie nerveuse.

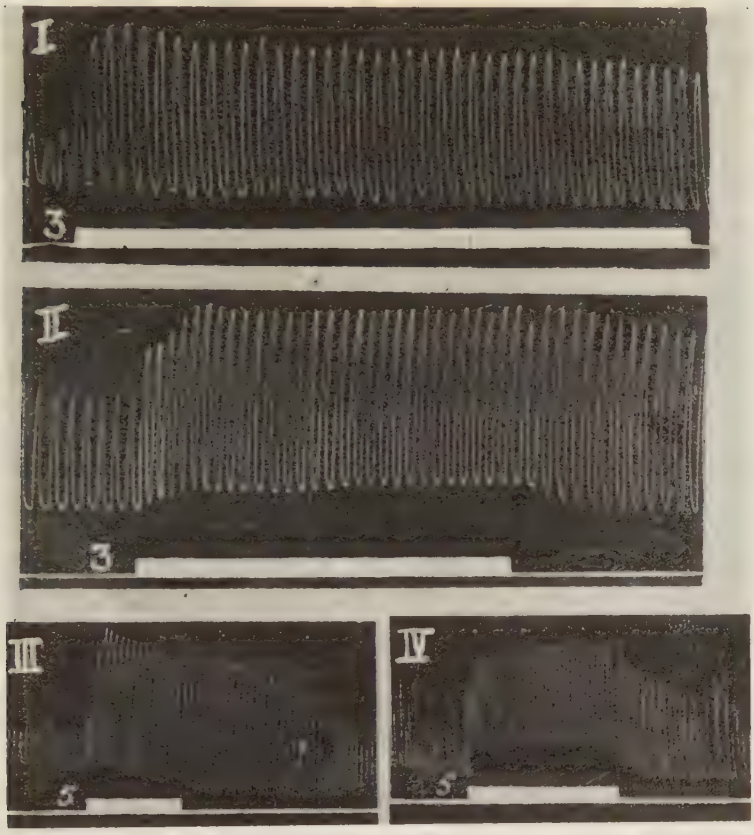

FIGURE 12. — Différents types de réponse anormale du ventricule de l'Escargot à la faradisation du nerf viscéral. L'excitation du nerf viscéral est suivie d'effet tonotrope positif (tracé II), inotrope positif (tracés I, II, III et IV) et chronotrope positif (tracé I, III et IV).

La question ne se pose donc pas de savoir s'il existe des influx de nature chronotrope négative, tonotrope négative, etc..., mais s'il existe des dispositifs anatomiques capables de présenter l'un ou l'autre de ces effets vagaux. Par extension, on convient d'attribuer aux nerfs les fonctions qui sont propres à l'organe qu'ils innervent : c'est ainsi qu'on parle de nerfs moteurs par exemple. Aussi, pourra-t-on parler de nerfs chronotropes ou tonotropes négatifs dans le tronc du nerf viscéral.

Le problème de l'unicité ou de la pluralité de l'action vagale se ramène donc, en dernière analyse, à un problème de structure du myocarde. La contraction cardiaque est une résultante extrêmement complexe : quels sont les facteurs qui participent à son élaboration et dans quel sens sont-ils modifiés par l'action nerveuse?

Il faut reconnaître que dans les cas les plus simples de la physiologie, il est particulièrement difficile de préciser les différents constituants d'un effet donné.

On sait, par exemple, que dans le cas d'une unité structurale aussi simple que la cellule musculaire striée banale, l'accord n'est pas fait sur la fonction qui lui est dévolue. La plus évidente, bien sûr, est la fonction motrice qui se manifeste par une contraction clonique. Mais la fibre semble jouir d'une propriété tonique, indépendante de la précédente, qui serait contrôlée par un type de fibre spécial.

Dans le cas du cœur, le problème se complique singulièrement du fait que l'on ne sait que peu de choses sur sa structure.

Certes, le myocarde présente, du point de vue anatomique, une structure syncytiale, ce qui peut passer pour un élément de simplification, mais on ne sait pas du tout si la totalité du myocarde représente un seul et même syncytium, ou une juxtaposition de telles unités, identiques entre elles, ou morphologiquement très dissemblables.

Quels sont les rapports du tissu nodal avec le myocarde banal? Toutes ces questions n'ont pas reçu de solution anatomique décisive. De sorte que, finalement, le problème que nous avons posé (unicité ou pluralité des fibres nerveuses du tronc vagal) n'a été résolu, le plus souvent, qu'à la faveur de l'exégèse des propriétés que l'on a bien voulu reconnaître au myocarde. C'est ce qu'établit la comparaison des différentes théories invoquées pour expliquer l'action vagale.

Muskens, L.J.J. (**197**) pense pouvoir ramener l'ensemble des effets vagaux observés au niveau du cœur, au retard ou à la suppression de la propagation de l'onde d'excitation à l'intérieur du myocarde, tant dans chacun des étages que d'un étage à l'autre. Selon cet auteur, la diminution de l'amplitude des contractions résulterait du fait qu'un nombre de plus en plus grand de fibres musculaires serait soustrait aux impulsions sinusales. Pour Muskens, L.J.J., il n'y aurait donc qu'un seul type de fibres vagales.

Engelmann, Th. W. (**68**) n'admet pas cette façon de voir et fait remarquer que pendant l'excitation du vague, une extrasystole provoquée artificiellement passe normalement de l'oreillette au ventricule. On observe même un accroissement de la vitesse de propagation de l'onde d'excitation, par rapport aux périodes de fonctionnement normal du cœur, en raison du grand repos qui précède cette extrasystole.

A son avis, la suppression des contractions a lieu, non par suite d'une diminution de la conductibilité, mais en raison du caractère sous-liminaire des impulsions sinusales qui prennent naissance pendant l'excitation vagale.

Mines, G.R. (**187**) montre également que la vitesse de conduction au travers du ventricule n'est pas diminuée pendant l'excitation vagale.

D'ailleurs, si l'hypothèse de Muskens était vérifiée, parallèlement à la diminution de la conduction au travers du cœur, on devrait observer un allon-

gement de la durée de la systole; or c'est justement l'inverse que l'on obtient [ENGELMANN, Th. W. **(69)**].

Pour HERING, H.E. **(104)**, le tronc du pneumogastrique ne serait constitué que par un seul type de fibres, puisque les variations de fréquence et d'amplitude des contractions apparaissent simultanément lorsqu'on excite le nerf.

Cette façon de voir est certainement erronée, car on peut observer, lors de l'excitation vagale, tantôt une variation de l'amplitude des contractions, non accompagnée de changement de fréquence, tantôt l'inverse.

HOFMEISTER, F. **(107)** étudie l'action du vague sur le cœur pour différentes excitabilités nerveuses. Ses observations l'amènent à constater que :

1) pour une grande excitabilité du pneumogastrique, l'excitation du vague entraîne l'arrêt total du cœur, pour de fortes intensités d'excitation, et un effet chronotrope négatif, pour de plus faibles intensités.

2) Pour une excitabilité moyenne du nerf, l'arrêt du cœur survient après une diminution progressive de l'amplitude des contractions, sans que la fréquence présente de grande diminution.

3) Enfin pour une faible excitabilité nerveuse, on n'observe qu'une diminution de l'amplitude des contractions.

Ces constatations l'amènent à ne considérer que deux types de fibres constitutives dans le tronc du pneumogastrique; des fibres chronotropes négatives et des fibres inotropes négatives.

TIGERSTEDT, R. **(248)** se rattache également à cette façon de voir.

ENGELMANN, Th. W. **(70)** ayant décrit quatre types d'effets différents au niveau du cœur pendant l'excitation vagale, pensait pouvoir attribuer chacune de ces actions à un type de fibre déterminé, à savoir : des fibres chronotropes négatives, inotropes négatives, dromotropes négatives et bathmotropes négatives.

Notre apport à cette discussion est d'ordre pharmacodynamique et résulte de nos recherches sur la possibilité d'étendre à l'Escargot (et au Poisson) la théorie cholinergique des influx cardio-inhibiteurs.

L'essentiel de ce dernier point faisant l'objet des études qui seront exposées plus loin, nous ne rapporterons ici que les résultats susceptibles de constituer des arguments en faveur de la systématisation du nerf viscéral de l'Escargot en plusieurs types de fibres fonctionnellement distinctes [JULLIEN, A. et RIPPLINGER, J. **(127, 129)**].

L'excitation du nerf viscéral entraîne l'apparition, dans l'intimité du myocarde de l'Escargot, d'une substance active sur le muscle de Sangsue, ayant les mêmes propriétés biologiques que l'acétylcholine [JULLIEN, A. et RIPPLINGER, J. **(125)**].

Si l'on admet, chez l'Escargot, la théorie des médiateurs chimiques du type acétylcholine, on peut se demander si cette substance est responsable de toutes les actions enregistrées lors de l'excitation du nerf cardiaque.

L'action préalable de l'acétylcholine sur le cœur et l'excitation subséquente des nerfs vagues ou du type vagal, de même que la technique inverse (excitation préalable du vague, suivie de l'application de solutions d'acétylcholine) fournissent une méthode qui permet d'analyser, au moins partiellement, la complexité

des appareils nerveux et d'attribuer à des supports élémentaires différents, certains des effets caractéristiques du vague sur l'automatisme cardiaque.

On réalise l'expérience suivante : sur le cœur *in situ* et relié à un myographe, on laisse tomber quelques gouttes d'une solution d'acétylcholine à 10^{-4} non ésérinée; rapidement se produit un arrêt en systole, ce qui est en accord avec les expériences, déjà anciennes de JULLIEN, A. (**115**) et de JULLIEN, A., VINCENT, D., VUILLET, M. et BOUCHET, M. (**147**).

Puisqu'on opère sans ésérine, la systolisation initiale provoquée par l'acétylcholine s'estompe progressivement, par suite de l'hydrolyse enzymatique de la drogue, et la ligne de tonus du cœur s'abaisse lentement pour rejoindre le niveau tonique diastolique normal.

Des excitations faradiques du nerf viscéral, portées à différentes étapes de cette lente décontraction, sont immédiatement suivies d'une chute de tonus myocardique, chute dont l'amplitude est fonction de l'intensité de l'excitation, et à laquelle fait suite le relâchement progressif.

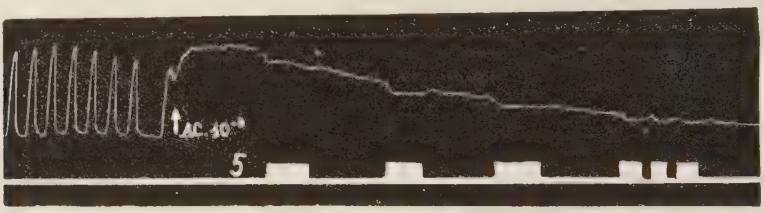

FIGURE 13. — Ventricule d'Escargot normal. Application externe d'une solution d'acétylcholine à 10^{-3}, qui provoque l'arrêt en systole de l'organe. L'excitation subséquente du nerf viscéral entraîne une chute de tonus qui disparaît à la cessation de l'excitation.

A la levée de l'excitation, le tonus remonte et reprend la valeur dont l'action nerveuse l'avait écarté (fig. 13).

Si l'effet de l'excitation du nerf viscéral se limitait à la simple libération du médiateur acétylcholinique, on devrait avoir un renforcement de l'action systolisante, ou, tout au moins, le maintien de celle-ci. Tout au contraire, malgré la production supplémentaire d'acétylcholine, le tonus baisse rapidement. On ne peut penser que les mêmes fibres soient responsables de ces diverses actions dont certaines sont antagonistes : d'une part, la libération d'acétylcholine inhibitrice et systolisante et d'autre part, l'action tonotrope négative. Il est plus satisfaisant d'admettre que les fibres du nerf cardiaque sont systématisées; il existerait dans ce tronc nerveux, des fibres spécifiquement chronotropes négatives, et d'autres, spécifiquement tonotropes négatives. L'action de ces dernières est puissante puisqu'elle annule l'effet tonotrope positif provoqué par l'acétylcholine initiale renforcée par « l'acétylcholine » libérée par l'excitation.

Une autre expérience vient corroborer ces résultats; si l'on excite d'abord faradiquement le nerf cardiaque et si l'on administre, au cours de l'excitation de l'acétylcholine à 10^{-4}, normalement très systolisante, le niveau de tonus d'arrêt du cœur se situe bien au-dessous du niveau de tonus obtenu avec la même concentration, sans excitation préalable (fig. 14).

Remarque. — Chez le Poisson, il sera plus aisé de mettre en évidence cette dualité structurale du pneumogastrique, grâce à l'inégalité des temps de latence d'apparition des effets chronotrope et tonotrope négatifs [JULLIEN, A. et RIPPLINGER, J. **(128)**], et aussi grâce à la dégénérescence wallérienne qui atteint les fibres tonotropes et respecte l'efficacité des fibres chronotropes [RIPPLINGER, J. **(228)**]. D'autre part, l'atropine, substance parasympathicolytique, supprime les effets chronotropes du vague mais n'élimine pas les manifestations tonotropes du cœur, qui continue de fonctionner sur le même rythme, à un niveau tonique abaissé.

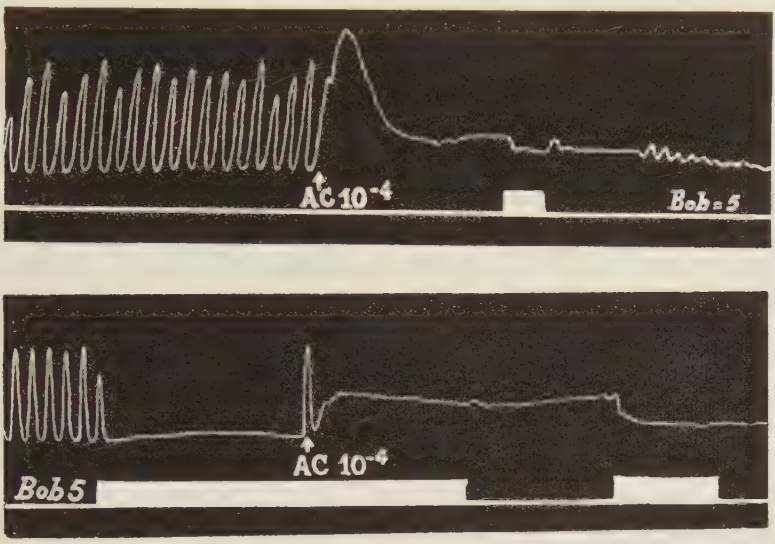

FIGURE 14. — Action de l'acétylcholine sur le cœur d'*Helix* sans excitation du nerf cardiaque (tracé supérieur) ou pendant cette excitation (tracé inférieur). La systolisation, due à l'application de la drogue, est beaucoup moins marquée dans le second cas que dans le premier.

Chez les Vertébrés, on peut trouver une justification à la structure hétérogène du pneumogastrique dans la structure même du cœur, organe placé sous son contrôle.

Les zones de tissu nodal (centres d'initiation des contractions spontanées du cœur, et voies de conduction de l'onde d'excitation au travers du myocarde) n'ont ni la même structure, ni les mêmes fonctions mécaniques que le tissu myocardique banal. C'est à ce dernier qu'est dévolu le rôle de propulser le sang; aussi les contractions de ce tissu sont-elles puissantes. Par contre, le tissu nodal, chargé de donner les impulsions rythmiques qui déclenchent les contractions du muscle cardiaque, n'a aucune activité mécanique.

Sans vouloir préjuger de la nature de l'impulsion qui est à l'origine de la systole, il semble plausible — et il est couramment admis — que la contraction soit inhibée plus aisément à sa naissance qu'au cours de sa phase d'énergie maximale; autrement dit, les fibres chronotropes négatives doivent agir sur le *primum movens* du cœur.

Quant aux fibres tonotropes négatives, nous pensons qu'elles doivent agir directement sur les fibres myocardiques, en modifiant leur état de raccourcissement (tonus) et, par suite, la puissance de leur contraction.

Nos observations chez l'Escargot (comme d'ailleurs celles que nous avons faites chez les Poissons) nous amènent donc à admettre, dans le tronc du nerf cardio-inhibiteur, deux types de fibres vagales : des fibres chronotropes négatives et des fibres tonotropes négatives.

Nous avons vu que TIGERSTEDT, R. (**248**), à la suite de HOFMEISTER, F. (**107**) reconnaissait pour sa part, des fibres chronotropes négatives et des fibres inotropes négatives.

Il est permis de se demander si les effets tonotropes négatifs que nous considérons comme dus à l'intervention de fibres spéciales, et inotropes négatifs, qui sont décrits chez tous les Vertébrés, ne représentent pas des manifestations différentes d'un seul et même effet inhibiteur, résultant de la mise en jeu d'une même espèce de fibres nerveuses; et dans ces conditions quel est l'effet initial (inotrope ou tonotrope) dont dépend l'autre.

Nous sommes obligé, pour apporter une réponse à cette question, d'invoquer les phénomènes que l'on observe au cours de l'inhibition vagale chez les Vertébrés. Dans cet embranchement, l'effet inotrope négatif ne se produit pas au niveau de tous les étages cardiaques; seules les oreillettes sont capables de présenter une diminution de l'amplitude de leurs systoles sous l'effet de l'excitation du pneumogastrique.

Par contre, les ventricules répondent toujours par une contraction totale à toute stimulation, naturelle ou artificielle, survenant au cours de l'inhibition cardiaque.

En somme, l'oreillette seule est capable de donner une réponse partielle à une incitation quelconque, tandis que le ventricule n'est susceptible de fournir qu'une contraction complète. Ce caractère typique de la réponse ventriculaire totale est à la base de la « loi du tout ou rien »; on l'explique par le fait que le myocarde ventriculaire est un syncytium unique, dont la contraction peut être déclenchée à partir de n'importe quel point, à condition que le stimulus soit subliminaire.

La notion d'inotropisme négatif est donc parfaitement incompatible avec celle de syncytium serré, propre au ventricule.

Par contre, la possibilité d'une réponse partielle de l'oreillette à toute incitation motrice, s'accorde avec l'hypothèse d'une structure syncytiale lâche du tissu auriculaire. Celui-ci serait constitué par la juxtaposition d'éléments syncytiaux relativement limités, synergisés dans les conditions normales par la présence d'une voie de conduction.

Histologiquement, le ventricule se montre constitué par du myocarde banal. Au cours de l'inhibition vagale, cet étage présente uniquement un effet tonotrope négatif qui, par conséquent, semble être une réaction spécifique du myocarde banal. On peut donc affirmer que ce tissu reçoit une innervation vagale tonotrope négative.

Il est logique de penser que l'effet tonotrope négatif observé au niveau de

l'oreillette procède de la mise en jeu de mécanismes identiques à ceux qui sont responsables de l'effet tonotrope négatif au niveau du ventricule. Autrement dit, l'effet tonotrope négatif auriculaire résulte d'une réaction du myocarde banal de l'oreillette.

D'autre part, le ventricule, sous l'influence de ses fibres tonotropes négatives, présente des systoles qui ne sont nullement diminuées en amplitude. Ce qui prouve que l'effet inotrope négatif n'est pas lié à l'intervention des fibres tonotropes négatives. Il est donc juste de penser que l'effet inotrope négatif observé au niveau de l'oreillette n'est pas une réaction du myocarde banal auriculaire (contrôlé par des fibres tonotropes négatives) mais provient de l'intervention d'un autre mécanisme.

L'observation directe d'une oreillette étalée (observations personnelles chez les Poissons) montre que la faradisation du nerf cardiaque suspend la propagation de l'onde d'excitation à l'ensemble du myocarde auriculaire. La structure particulière de l'oreillette permet de rendre compte de ce phénomène. La faradisation du nerf atteint les voies de propagation de l'influx cardio-excitateur qui deviennent de plus en plus imperméables à mesure qu'elles se trouvent plus éloignées du *primum movens*. De sorte que les syncytiums les plus périphériques ne participent plus à la contraction auriculaire, et les portions du myocarde restant actives ne sont plus assez puissantes pour soulever le levier inscripteur, ce qui entraîne une diminution de l'amplitude des systoles.

Les voies de conduction sont représentées dans l'oreillette, par du tissu nodal, doué d'activité automatique. Aussi, est-il tout à fait normal de penser que les fibres inhibitrices qui modifient la conduction dans le faisceau conducteur sont de même nature que celles qui arrivent au centre cardio-stimulateur, c'est-à-dire chronotropes négatives. En conséquence, l'effet inotrope négatif qui apparaît au niveau de l'étage auriculaire, ne représente qu'une modalité de l'effet chronotrope négatif portant sur les voies de conduction intra-auriculaires.

L'étude que nous avons faite de cet effet n'a porté que sur l'oreillette des Poissons, mais les conclusions que nous en avons tirées sont aisément transposables au ventricule de l'Escargot, puisque cet étage présente les mêmes effets inotropes négatifs que l'oreillette des Vertébrés.

Que l'effet tonotrope négatif, que nous reconnaissons parmi les actions vagales, ait échappé, le plus souvent, aux observateurs, au cours des expériences menées sur les cœurs de Vertébrés supérieurs, semble provenir du fait que le levier inscripteur utilisé n'est généralement pas assez pesant pour soulever l'organe affaissé sur lui-même, trop compact pour se prêter à un allongement passif de quelque importance.

En résumé, le nerf viscéral de l'Escargot, dans son action sur le cœur, se comporte comme s'il était constitué par deux types de fibres fonctionnellement distinctes : les unes chronotropes négatives, responsables des effets d'inhibition ou d'arrêt cardiaque, et de l'inotropisme négatif; elles agissent sur le tissu nodal; les autres tonotropes négatives dont l'action se manifeste par des variations de longueur des fibres myocardiques banales.

3) *Etude des facteurs susceptibles de modifier la réponse du myocarde à l'excitation du nerf viscéral :*

α) *Influence de la tension mécanique du myocarde sur sa réponse à l'excitation vagale*

Dans la plupart de nos expériences, la tension minima exercée par le stylet inscripteur sur le cœur était telle que le ventricule était soutenu verticalement; le plus souvent, le cœur travaillait contre une surcharge inférieure à 100 mg exercée par un petit cavalier placé sur le bras inscripteur.

Nous avons été amené à rechercher systématiquement les effets des tensions progressivement croissantes sur l'action cardio-inhibitrice du nerf viscéral.

Le levier inscripteur est équilibré de façon telle que le ventricule soit soulevé perpendiculairement au poumon étalé sur la plaque de liège. Cette tension minimale est considérée comme équivalente à 0.

Après avoir constaté que l'excitation faradique du nerf viscéral est suivie des effets chronotrope et tonotrope négatifs habituels, on charge le bras amplificateur du levier au moyen d'un petit cavalier de poids connu que l'on éloigne, centimètre par centimètre, de l'axe d'oscillation.

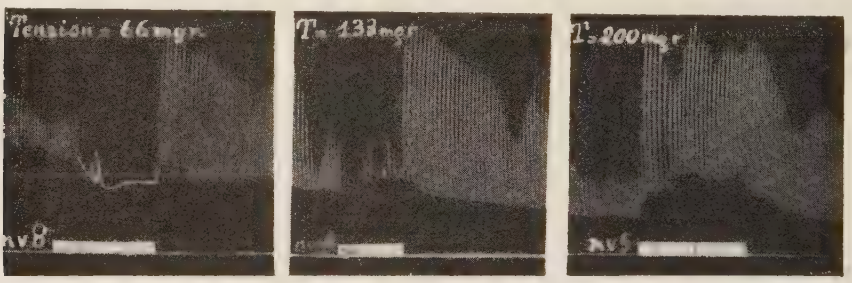

FIGURE 15. — Effets de la tension axiale du myocarde ventriculaire, sur la réponse de l'organe à une même excitation faradique du nerf viscéral.

A chaque accroissement de la tension, le myocarde s'allonge et atteint lentement une nouvelle élongation; on attend, avant de porter l'excitation sur le nerf viscéral, que la longueur de l'organe se soit stabilisée à sa nouvelle valeur. On constate que pour des faibles tensions, l'effet tonotrope négatif est toujours appréciable et régulièrement accompagné de l'effet chronotrope négatif.

Pour des tensions moyennes, l'arrêt du ventricule se produit sur la ligne de tonus diastolique normal (fig. 15).

Enfin, pour de fortes tensions du myocarde, l'arrêt, s'il se produit, se fait en hémi-systole ou en systole, et sa durée est toujours très brève.

Parfois même, il n'y a pas d'arrêt, et les systoles se produisent sur un mode inotrope positif.

β) *Influence de l'intensité de l'excitation sur la réponse du ventricule à la faradisation du nerf viscéral*

Si on porte, sur le nerf viscéral, des excitations d'intensité croissante, obtenues en rapprochant progressivement les bobines du chariot de Du Bois-Reymond,

on constate que pour des intensités faibles (par exemple d 7) il n'y a aucune réaction du myocarde. Pour des intensités plus fortes, le cœur commence à présenter un effet chronotrope négatif (arrêt en diastole) ; si l'intensité augmente encore, les contractions du cœur reprennent sur un mode inotrope positif et suivant leur rythme normal. Pour des intensités très fortes, l'effet inotrope positif est accompagné d'une hausse plus ou moins considérable du tonus (fig. 16).

Cette influence de l'intensité de l'excitation sur la réponse du cœur n'est pas constante au cours de l'année. En été, la seule réponse ventriculaire consiste dans les effets chronotrope et tonotrope négatifs habituels, quelle que soit l'intensité de l'excitation.

En hiver, comme nous allons le voir, il est tout à fait exceptionnel d'observer l'effet chronotrope négatif.

Entre ces deux périodes extrêmes, le cœur est capable de présenter des réactions opposées pour des intensités d'excitation faibles ou fortes.

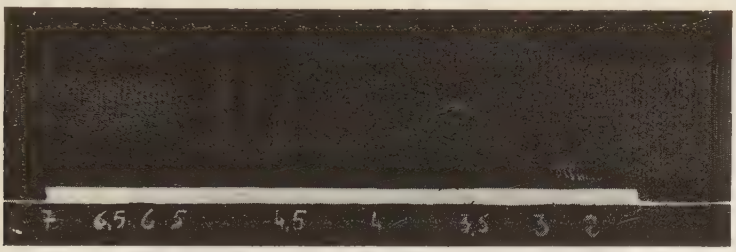

FIGURE 16. — Influence de l'intensité de l'excitation du nerf viscéral sur la réponse du ventricule d'un Escargot en automne (fin septembre). De faibles intensités provoquent un effet chronotrope négatif. Des intensités plus fortes entraînent un effet inotrope positif, puis tonotrope positif, avec un léger effet chronotrope positif.

γ) *Influence de la saison sur les réactions du myocarde de l'Escargot au cours de la faradisation du nerf viscéral*

Le mode de réaction cardiaque décrit (arrêt des contractions et relâchement diastolique), au cours de l'excitation du nerf viscéral, est celui qu'on obtient habituellement en été. L'inhibition de type vagal est de règle en cette saison, et il est tout à fait exceptionnel d'obtenir, même pour de fortes intensités d'excitation, un effet cardio-accélérateur, comme l'avait signalé CARLSON, A.J.

Par contre, en hiver, sur un cœur suspendu au levier inscripteur et légèrement tendu, comme dans les conditions précédentes, les effets le plus habituellement observés au cours de la faradisation du nerf viscéral sont chronotropes et tonotropes positifs (fig. 12). Dans quelques cas, exceptionnels, il est vrai, il est encore possible d'observer des phénomènes d'inhibition, mais l'intensité du courant induit qui les provoque est comprise entre des limites très étroites. En rapprochant graduellement les bobines du chariot de Du Bois-Raymond, c'est l'effet chronotrope négatif qui apparaît en premier lieu. Pour des excitations plus fortes, l'arrêt est remplacé successivement par des systoles d'amplitude supérieure à l'amplitude normale, sans changements de tonus; puis par des systoles amples accompagnées d'un effet tonotrope positif; enfin, pour de très fortes intensités, on note un effet chronotrope positif sensible (fig. 16).

Ces réactions décelées chez l'animal hibernant pouvaient laisser supposer le nerf viscéral encore plus systématisé que nous ne l'avions admis initialement; il renfermerait ainsi, non seulement les deux types de fibres cardio-inhibitrices (chronotropes et tonotropes négatives), mais encore des fibres cardio-accélératrices (tonotropes et chronotropes positives) dont l'action serait normalement masquée en été par celle des fibres précédentes.

Structure des fibres chronotropes négatives

Au cours des recherches entreprises pour élucider le déterminisme de ce comportement hibernal du cœur de l'Escargot, il nous a été permis de préciser quelques points concernant le mode de transmission des influx nerveux le long du nerf cardiaque, ainsi que le mode d'action de ce dernier sur les différentes parties du cœur [Ripplinger, J. (**230**)].

Dans toutes nos expériences d'été, l'excitation faradique était portée sur le nerf viscéral intact, non loin de son émergence des ganglions viscéraux.

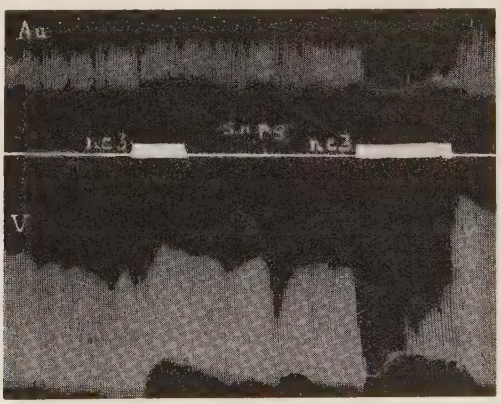

Figure 17. — *Helix pomatia* normal.
Action de la section du nerf palléal gauche sur la réponse du ventricule à l'excitation vagale. Avant la section, l'excitation du nerf viscéral entraîne l'apparition de phénomènes tonotropes positifs au niveau du ventricule. Après la section, il y a rétablissement de l'effet chronotrope négatif.

En hiver, le nerf, excité au même point, provoque sur le ventricule les effets aberrants décrits plus haut. Ceux-ci sont moins marqués au niveau de l'oreillette (fig. 17, à gauche); tout au plus y observe-t-on une légère montée du tonus diastolique, sans phénomènes chronotropes.

En répétant, sur le même animal, la même excitation en des points de plus en plus périphériques du nerf, les phénomènes d'inhibition habituels, et principalement l'arrêt, apparaissent de façon progressivement plus marquée, d'abord au niveau du ventricule, puis de l'oreillette. Aux environs du point de séparation des filets auriculaire et ventriculaire, l'effet chronotrope négatif atteint sa valeur maxima sur les deux étages.

Quant aux effets tonotropes accompagnant l'inhibition des deux étages cardiaques, en général ils ne sont pas sensiblement modifiés par le déplacement du point d'excitation le long du nerf viscéral. Comme les réactions toniques consé-

cutives à la faradisation du nerf viscéral sont variables avec les individus, on pourra obtenir l'arrêt soit en diastole avec baisse de tonus, soit en simple diastole, soit en demi-systole.

Ces expériences prouvent donc que le cœur, en hiver, est toujours capable de présenter des phénomènes chronotropes négatifs. Autrement dit, les fibres nerveuses qui acheminent les influx inhibiteurs vers le myocarde, sont toujours efficaces dans leur portion terminale. Par contre, elles semblent inexcitables dans leur portion initiale.

Ce changement de propriété fonctionnelle rencontré le long d'un nerf ne s'accorde pas avec les données de la physiologie nerveuse qui admet qu'un nerf normal présente des propriétés sensiblement constantes tout le long de son parcours. Aussi, pour expliquer cet effet chronotrope négatif croissant, l'hypothèse la plus vraisemblable consiste à admettre, le long du nerf viscéral, l'existence de corps de neurones jouant le rôle de relais sur le trajet des influx chronotropes négatifs. L'excitation des parties distales du nerf intéresse le plus grand nombre possible de fibres « post-ganglionnaires », ce qui va de pair avec un effet chronotrope négatif maximum.

Quant aux fibres tonotropes, elles semblent passer d'une seule traite des centres supérieurs au cœur, puisque l'excitation, portée en n'importe quel point de leur parcours, ne modifie pas leur action périphérique.

L'étude microscopique du nerf viscéral semble confirmer cette façon de voir. En effet, elle le montre parsemé irrégulièrement de grosses masses fortement colorables à l'hématoxyline ferrique qui ont tout à fait l'aspect de corps de neurones.

La présence de cellules végétatives le long du nerf viscéral est en tous points comparable à celle observée chez les Mammifères [BOTAR, J. et COLL. **(26)**] le long du pneumogastrique.

En poursuivant l'exploration des portions terminales du nerf viscéral au moyen des excitations faradiques, on constate que la stimulation du *nerf auriculaire* entraîne une réponse non seulement de l'oreillette, mais également du ventricule. Ces deux étages présentent l'un et l'autre les phénomènes d'inhibition habituels.

L'inhibition ventriculaire se produit régulièrement avec la même intensité, quel que soit le point excité du *nerf auriculaire*. Par contre, la faradisation directe de l'oreillette reste sans effets sur le rythme ventriculaire.

Dans le *nerf auriculaire*, l'influx chronotrope suit donc un sens centripète avant d'arriver au ventricule. Il ne s'agit pas d'un réflexe d'origine auriculaire puisque l'excitation directe de l'oreillette reste sans effets; ni d'un réflexe d'origine centrale, car la section du nerf viscéral en amont du point de séparation des nerfs auriculaire et ventriculaire n'empêche pas l'inhibition du ventricule. L'examen, à un fort grossissement, de la bifurcation de ces deux nerfs montre que le nerf ventriculaire est bien formé par la coalescence de fibres d'origine centrale et d'origine auriculaire. En ce qui concerne ces dernières, deux explications sont possibles : ou bien il s'agit de fibres chronotropes négatives à destination ventriculaire qui se sont engagées sur une certaine longueur dans le nerf auriculaire, et rebroussent chemin pour passer dans le nerf ventriculaire; ou bien ce sont des fibres post-ganglion-

naires dont les neurones sont dispersés le long du nerf auriculaire. L'examen histologique pourrait peut-être donner quelques indications sur la provenance de ces fibres récurrentes. Cependant l'interprétation du caractère constant de l'inhibition ventriculaire, pour différentes positions des électrodes excitatrices le long du nerf auriculaire, permet de penser qu'il s'agit effectivement de fibres postganglionnaires à trajet récurrent, dont les noyaux d'origine se trouveraient groupés en un amas à la jonction de la veine pulmonaire et de l'oreillette, amas qui a été reconnu histologiquement par EIGER, M. **(66)**.

L'excitation du nerf ventriculaire, efficace sur le ventricule, reste absolument sans effets sur le rythme auriculaire. Par conséquent, l'oreillette reçoit son contingent de fibres inhibitrices directement des centres supérieurs de l'animal.

Cette disposition anatomique semble intéressante à connaître pour expliquer quelques points de la physiologie du cœur *in situ* que nous avons exposés précédemment.

En effet, nous avons signalé que les rythmes auriculaires et ventriculaires étaient parfaitement coordonnés sur l'animal vivant, en dépit des irrégularités de l'arrivée d'hémolymphe au cœur qui sont à l'origine des modifications de fréquence des deux étages. La ligature du sillon auriculo-ventriculaire ne perturbe pas de façon définitive l'accord des rythmes; par contre, la section du nerf auriculaire rend l'oreillette totalement indépendante du ventricule. On pourrait penser que l'automatisme ventriculaire, normalement rapide et soutenu, serait continuellement freiné par l'oreillette qui lui envoie des influx inhibiteurs.

Il est probable d'ailleurs, que le nerf auriculaire ne représente pas la seule voie d'arrivée, au ventricule, de fibres chronotropes négatives. En effet, sur le cœur isolé, la section du sillon auriculo-ventriculaire ou sa ligature semble libérer le ventricule de l'influence inhibitrice de l'oreillette.

Etude de l'effet tonotrope positif

Les recherches précédentes, entreprises pour préciser les éléments intervenant dans le mode de réaction particulier du cœur de l'Escargot hibernant, nous ont permis de trouver la raison pour laquelle l'effet chronotrope négatif était supprimé, mais il reste à trouver l'origine des effets tonotropes et chronotropes positifs.

En ce qui concerne le premier (effet tonotrope positif), il est possible qu'il soit sous la dépendance de la tension de l'organe. En effet, dans toutes nos conditions expérimentales, nous nous étions efforcés de conserver constants les différents facteurs susceptibles de modifier la réponse du cœur à l'excitation du nerf viscéral, et en particulier la tension. Celle-ci, choisie sur des animaux d'été de façon à laisser au myocarde ses propriétés réactionnelles normales, se montre beaucoup trop forte sur des animaux d'hiver. En cette saison tout se passe comme si l'effet tonotrope positif, produit par excitation du nerf viscéral, était la réponse d'un organe exagérément étiré sous l'influence du poids du levier inscripteur. Une diminution de la tension arrive effectivement à réduire l'effet tonotrope positif, parfois même à le supprimer, mais il est tout à fait exceptionnel de produire le retour de l'effet tonotrope négatif en réduisant la charge du cœur.

Le facteur tension, que nous avions étudié dans le paragraphe précédent, rend donc partiellement compte de l'augmentation du tonus du myocarde sous

l'influence de la faradisation du nerf viscéral. Tout se passe comme si le cœur était à son maximum d'élongation, comme s'il avait perdu son « tonus ».

Etude de l'effet chronotrope positif

Quant à la réaction chronotrope positive que l'on observe souvent parmi les réactions du myocarde en hiver, elle ne semble pas devoir son apparition à l'intervention de fibres chronotropes positives passant par le nerf viscéral. En faisant toutes réserves quant au mode d'action réel des sympathicolytiques ou des parasympathicolytiques chez les Invertébrés, et chez l'Escargot en particulier, l'expérience montre que :

— l'intoxication de l'Escargot par le sulfate d'atropine substance parasympathicolytique, ne modifie pas les résultats de l'excitation du nerf viscéral. En été, l'effet cardio-inhibiteur se produit toujours avec la même intensité et nous n'avons jamais pu observer, sous l'influence de cette drogue, la disparition de l'effet chronotrope négatif lorsqu'il se produisait initialement. Chez l'animal hibernant, les réactions cardiaques sont également inchangées.

— la cocaïne exerce, théoriquement, un effet potentiateur vis-à-vis des fibres de type sympathique. Sur l'animal d'été, l'application de cette substance devrait renforcer l'action des fibres éventuellement responsables des effets chronotropes positifs. Là non plus, il n'est pas possible de tirer de conclusions, étant donné que les effets cardio-inhibiteurs ne sont pas modifiés par cocaïnisation de l'animal.

— la yohimbine est un sympatholytique. Appliquée au cœur de l'Escargot présentant des réactions de type sympathique (en particulier chronotrope positive), cette substance devrait pouvoir faire reparaître les effets inhibiteurs habituels. Or, il n'en est rien, et le cœur répond de façon inchangée aux excitations du nerf viscéral.

Aux termes de ces différents essais, et en admettant que l'action de ces drogues soit identique chez l'Escargot à celle observée chez les Vertébrés, on pourrait affirmer que le nerf viscéral ne contient pas de fibres chronotropes positives. Nous adopterons sur ce point une position prudente : l'atropine ne lève pas les actions cardio-inhibitrices du nerf viscéral de l'Escargot, à l'inverse de ce qui se passe chez les Vertébrés. Rien ne nous permet d'affirmer que la cocaïne et la yohimbine conservent leurs actions chez cette même espèce. Aussi, la question de l'existence de fibres chronotropes positives dans le tronc du nerf viscéral ne nous semble-t-elle nullement tranchée.

δ) *Influence d'une innervation de type sympathique représentée par le nerf palléal gauche* **(230)**

Si la réponse cardiaque à l'excitation du nerf viscéral ne pose pas de problèmes majeurs chez l'Escargot d'été, la physiologie du cœur et de son innervation extrinsèque est beaucoup plus délicate à interpréter en hiver comme nous venons de l'entrevoir.

Les quelques facteurs que nous avons pu étudier (intensité de l'excitant, tension) ne rendent pas compte de la totalité des anomalies rencontrées.

Au cours de toutes ces expériences, les connexions centrales du nerf viscéral étaient conservées. Il restait à rechercher l'action éventuelle du système nerveux de l'animal sur la régulation extrinsèque de l'organe.

La section du nerf viscéral à son émergence de la masse ganglionnaire sous-œsophagienne, chez un animal présentant des réactions cardiaques hibernales, rétablit immédiatement les propriétés cardio-inhibitrices classiques dans le bout périphérique (fig. 18). Si l'effet tonotrope négatif n'est pas constant, par contre l'effet chronotrope négatif reparaît dans toute son ampleur, au cours de la faradisation du nerf sectionné.

Ainsi, l'inexcitabilité des fibres préganglionnaires chronotropes négatives a une origine centrale; la synapse pré-post-ganglionnaire redevient fonctionnelle lorsqu'on supprime l'influence inhibitrice des neurones préganglionnaires.

Cependant, chez l'animal intact, la faradisation du nerf était suivie d'une réaction tonotrope positive que l'on ne retrouve plus dans ces nouvelles conditions expérimentales. Il apparaît donc que l'innervation du cœur n'est pas uniquement représentée par le nerf viscéral.

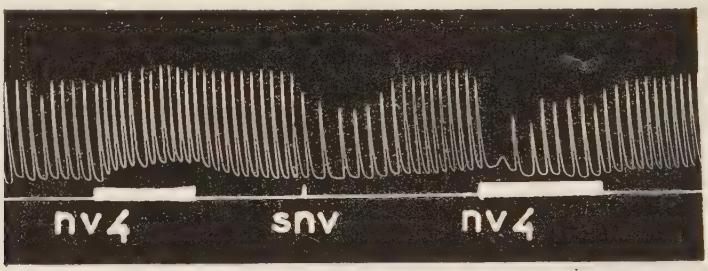

FIGURE 18. — La faradisation du nerf viscéral intact (à gauche) ne produit aucun effet vagal typique au niveau du ventricule. La seule réaction myocardique observée est une montée du tonus diastolique, accompagnée d'un effet chronotrope positif.
La section du nerf viscéral (*snv*), en amont du point d'excitation, provoque un effet chronotrope négatif par suite du traumatisme, et témoigne du rétablissement immédiat, dans le bout périphérique du nerf, des propriétés cardio-inhibitrices normales. Ce que confirme l'excitation subséquente du bout périphérique du nerf viscéral, qui entraîne l'effet chronotrope négatif typique.

C'est ce que prouve également la faradisation du bout central du nerf viscéral sectionné; à chaque série d'excitations portée sur le nerf, le cœur répond par une montée tonique accompagnée d'un effet chronotrope positif.

La faradisation systématique de tous les nerfs issus du collier péri-œsophagien nous a permis de reconnaître que seul le *nerf palléal gauche* pouvait être rendu responsable de ces effets.

La section de ce nerf, chez l'animal hibernant, rétablit les effets chronotropes négatifs du nerf viscéral au niveau du cœur, comme le faisait la section haute du nerf viscéral (fig. 17).

L'excitation faradique du bout périphérique du nerf palléal gauche entraîne la montée tonique du ventricule et parfois une accélération des systoles (fig. 19, III). L'oreillette ne semble pas influencée par ce nerf.

Le nerf palléal gauche présente des variations saisonnières dans son efficacité comme le nerf viscéral. Mais, à la différence de ce dernier, ses périodes d'inexcitabilité se situent en été, tandis qu'en hiver son action tonotrope positive est maximale.

4) *Discussion*

L'analyse des réactions anormales du cœur de l'Escargot hibernant, au cours de la faradisation du nerf viscéral, nous a amené à concevoir l'existence de deux nerfs à destination cardiaque. L'un est représenté par le nerf viscéral, dont nous avons étudié la structure; l'autre, par le nerf palléal gauche. L'inexcitabilité des filets chronotropes négatifs du nerf viscéral, en hiver, est plus apparente que réelle : seules les fibres préganglionnaires sont « inactivées » tandis que les fibres post-ganglionnaires conservent toute leur efficacité sur le myocarde.

L'inactivation de ces fibres pré-ganglionnaires ne provient pas de l'intervention de facteurs externes, tels que des modifications des caractères physico-chimiques du milieu intérieur — qui devraient agir de façon égale sur tous les éléments nerveux, — mais semble résulter de l'intervention d'un facteur interne, vraisemblablement d'une inhibition centrale agissant spécifiquement sur les neurones préganglionnaires.

Le rôle du système nerveux central de l'animal apparaît également dans le balancement des activités antagonistes des fibres tonotropes négatives du nerf viscéral, et tonotropes positives du nerf palléal gauche.

D'autre part, l'expérience montre que l'absence de réaction du myocarde, en été, lors de l'excitation du nerf palléal gauche, comme l'absence d'effet tonotrope négatif en hiver au cours de la faradisation du nerf viscéral, ne sont que des apparences.

En effet, chez l'animal hibernant, l'excitation du bout périphérique du nerf viscéral sectionné n'entraîne pas d'effets tonotropes négatifs. Cependant, si on fait précéder l'excitation du nerf viscéral d'une faradisation du nerf palléal gauche, entraînant une montée tonique de l'organe, on constate que les effets cardio-inhibiteurs du nerf viscéral reparaissent au complet et comportent en particulier, l'effet tonotrope négatif (fig. 19). Inversement, en été, le nerf palléal gauche est inefficace. Si, avant de l'exciter faradiquement, on stimule tout d'abord le nerf viscéral (ce qui entraîne l'effet tonotrope négatif habituel), on note que son activité tonotrope positive reparaît pour un moment.

Tout se passe comme si la réaction tonique du cœur, au cours de l'excitation de l'un ou l'autre nerf, était conditionnée par son état tonique initial.

Il semble que nous ayons là l'explication de la physiologie particulière du cœur de l'Escargot en hiver.

L'excitation des fibres tonotropes négatives ne devient efficace que si le cœur est capable de se distendre. A la limite des possibilités d'allongement du myocarde, les fibres tonotropes négatives n'agissent plus, non parce qu'elles ont perdu leur excitabilité, mais parce que le cœur ne peut plus répondre. Il semble que ce soit le cas de l'Escargot d'hiver. Nous retrouvons là une notion que nous avions émise au début de l'étude de l'influence des saisons, à savoir que le myocarde de *Helix*, en hiver est complètement atone.

Inversement en été, les fibres tonotropes positives restent sans action sur le cœur parce que celui-ci est au maximum de son tonus. L'excitation des fibres tonotropes négatives a toutes les chances d'entraîner une dépression profonde du myocarde.

Ces expériences montrent donc que le cœur de l'Escargot est soumis à une double innervation tonotrope; l'une, négative, agit en relâchant les fibres myocardiques, l'autre, positive, augmente le tonus de ces mêmes fibres. L'un et l'autre système agit de façon tonique sur le cœur.

En hiver, le système tonotrope négatif est prédominant; le ventricule est totalement relâché; au cours de la faradisation du nerf viscéral, il y a mise en jeu des fibres tonotropes positives vraisemblablement par voie réflexe. De plus, il semble que l'excitabilité de ces fibres se trouve accrue en cette saison.

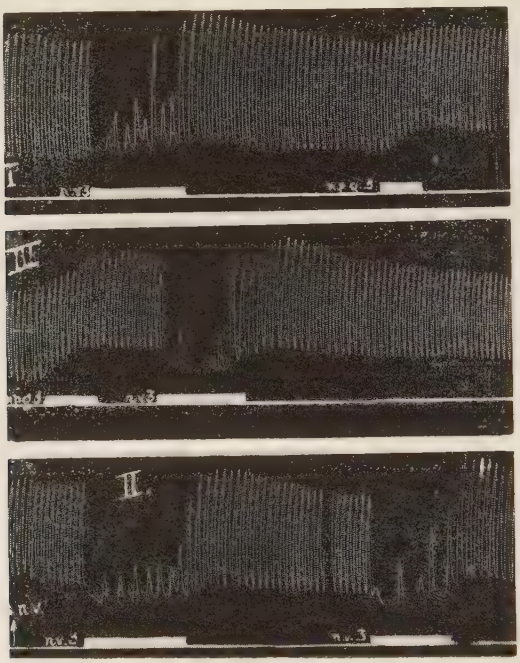

FIGURE 19.

Tracé I. — L'excitation du nerf viscéral entraîne un effet inotrope négatif passager, mais le tonus du ventricule augmente. L'excitation du nerf palléal gauche (n. p. g.) avec la même intensité produit également une montée tonique du myocarde ventriculaire.

Tracé II. — Suite du précédent. La section du nerf viscéral suivie de l'excitation du bout périphérique, entraîne la réapparition des phénomènes chronotropes dans toute leur amplitude (remarquer que pour les deux excitations, le niveau tonique du cœur est le même; le tonus du cœur décroît régulièrement.

Tracé III. — Suite des précédents. Le cœur est relâché. L'excitation du nerf palléal gauche augmente son tonus. L'excitation du nerf viscéral entraîne une chute de tonus qui ramène le cœur au niveau tonique de départ.

En été par contre, ce sont les fibres tonotropes positives qui sont prédominantes; toute excitation de ces fibres ne produit aucun effet car le cœur est à la limite de ses réactions toniques positives; par contre, les fibres tonotropes négatives du nerf viscéral, au cours de la faradisation, trouvent leur pleine efficacité sur l'organe capable de relâchements diastoliques profonds.

Quant aux effets chronotropes positifs, dont l'apparition ne semble pas dépendre de fibres nerveuses spéciales, il est possible de leur trouver une explication dans les expériences de CARDOT, H. et ARVANITAKI, A. (**42**, **34**, **44**). Aux termes de ces recherches, il existerait une relation très étroite entre la fréquence cardiaque et le niveau tonique de l'organe. Cette relation se manifesterait, non seulement pour un niveau tonique donné, mais également au cours de toute variation de tonus, spontanée ou provoquée, du ventricule de l'Escargot. Lorsque le tonus de l'organe isolé augmente, les systoles qui se produisent à ce moment se font sur un mode inotrope positif et parfois sur un rythme chronotrope positif. Par contre, lorsque le tonus diminue, on observe souvent un effet inotrope négatif accompagné d'un effet chronotrope négatif. Il est donc possible qu'il existe une synergie entre les fibres tonotropes négatives et les fibres chronotropes négatives.

En été, les fibres tonotropes négatives, en agissant dans le sens d'une diminution du tonus, favorisent également l'apparition de l'effet chronotrope négatif.

En hiver, le phénomène inverse se produit; la montée de tonus due à la mise en jeu de fibres tonotropes positives s'accompagne de l'effet inotrope positif et parfois chronotrope positif.

Dans ces conditions, on pourrait se demander si l'absence d'effet chronotrope négatif en hiver, ne serait pas due, tout simplement, à un antagonisme entre les fibres chronotropes négatives et les fibres tonotropes positives. Dans cette hypothèse, les premières seraient toujours fonctionnelles, sur toute leur longueur, mais l'action tonotrope positive, cardio-stimulante, des secondes, l'emporterait régulièrement sur l'action chronotrope négative.

En faveur de cette hypothèse, on pourrait invoquer l'action des excitations d'intensité croissante portées sur le nerf viscéral (fig. 16). L'effet chronotrope négatif apparaît en premier lieu, car le stimulus est incapable de susciter la mise en jeu réflexe des fibres palléales gauches. Mais dès que l'intensité de l'excitant atteint une valeur limite, le nerf palléal participe à l'action nerveuse sur le cœur, et la réponse cardiaque aux deux sollicitations de sens contraires se traduit par un effet inotrope positif et chronotrope positif.

Mais il est non moins certain que le système chronotrope négatif perd de son efficacité en hiver. Son action sur l'oreillette le montre fort bien. Cet étage ne subit pas l'influence du nerf palléal gauche. Tant que le nerf viscéral reste en relation avec les centres ganglionnaires, son excitation reste sans effets sur l'étage auriculaire. Si on vient à le sectionner à son émergence de la masse ganglionnaire sous-œsophagienne, l'effet chronotrope négatif reparaît sur l'oreillette. Donc vraisemblablement, il y a une influence centrale qui inhibe la propagation des influx nerveux jusque vers leur point d'action normal, et cette inhibition ne porte que sur les fibres préganglionnaires des éléments chronotropes négatifs.

Cette influence inhibitrice centrale avait été admise déjà par VAN TIEL, N. (**247**). Pour cet auteur, le cœur de l'Escargot possède deux centres cardio-régulateurs, l'un accélérateur, l'autre modérateur, dont le tonus est réglé par un centre supérieur situé dans les ganglions cérébroïdes.

Cette hypothèse est fort plausible et nos résultats semblent la confirmer. La

dominance de l'un ou l'autre système tonotrope pourrait s'expliquer par l'intervention d'un tel centre supérieur qui modifierait leur action tonique sur le myocarde. L'explication cependant n'est pas valable pour les fibres chronotropes négatives.

Nous avons vu que si l'existence des fibres chronotropes négatives est indiscutable, celles des fibres chronotropes positives l'est beaucoup moins : l'expérience ne permet pas de les déceler dans les nerfs afférents au cœur, quelles que soient les conditions opératoires adoptées.

L'influence centrale sur les nerfs chronotropes négatifs ne s'exercerait que sur les fibres pré-ganglionnaires.

Le déterminisme qui règle la dominance de l'un ou l'autre système cardio-régulateur nous échappe en grande partie.

Le froid, s'il agit, a un effet bien faible. Des animaux d'été, placés en glacière, ne changent pas leur type de réaction cardiaque pour des températures voisines de 0° C.

Par contre, les changements de la composition minérale de l'hémolymphe semblent être de première importance.

Si l'on veut bien tenir compte du fait que la formation de l'épiphragme, en automne, se fait aux dépens de la réserve calcique de l'Escargot, on peut penser que l'animal hibernant est un animal décalcifié. C'est ce que confirme l'expérience : l'administration de chlorure de calcium à l'Escargot d'hiver produit, dans l'heure qui suit l'injection, le retour à une activité estivale, et le cœur présente, au bout de 24 heures, les réactions normalement rencontrées en été, au cours de la faradisation du nerf viscéral (effets chronotrope et tonotrope négatifs).

5) *Conclusions*

Le cœur de l'Escargot reçoit une double innervation : l'une, cardio-inhibitrice, est active surtout en été. Elle est représentée par le nerf viscéral qui renferme des fibres chronotropes négatives et tonotropes négatives.

L'autre, cardio-tonique positive, efficace surtout en hiver, est responsable des effets tonotropes positifs, lesquels s'accompagnent souvent de phénomènes chronotropes positifs. Elle constitue le nerf palléal gauche.

Ces deux systèmes cardio-régulateurs sont contrôlés eux-mêmes par un troisième centre (inhibiteur, selon l'opinion de VAN TIEL, N.) dont l'activité serait étroitement liée à la présence des ions Ca^{++} dans le milieu intérieur de l'animal.

c) RÉSULTATS OBTENUS SUR LE VENTRICULE PERFUSÉ

1) *Réponse du cœur normal à la faradisation du nerf viscéral chez l'animal d'été*

La technique du montage a été exposée plus haut.

Lorsque le ventricule vient d'être monté sur la canule maintenue inclinée à 45° environ sur un bloc de pâte à modeler, ses contractions sont fonction de la tension à laquelle se trouve soumis le myocarde.

La région moyenne de l'organe est reliée à un stylet inscripteur équilibré ou très légèrement chargé, par l'intermédiaire d'une pince serre-fine posée directement sur la paroi ventriculaire.

La canule restant vide, les contractions enregistrées en ces conditions sont assez irrégulières en amplitude.

L'excitation faradique du nerf viscéral provoque, chez les animaux actifs (en été) les phénomènes vagaux habituels, c'est-à-dire inhibition des contractions et relâchement diastolique du myocarde.

On charge la canule en introduisant dans son réservoir un volume déterminé de liquide physiologique. Cette quantité de liquide restera toujours la même au cours d'une même expérience afin d'éliminer les variations de fréquence dues aux variations de pression.

Le liquide utilisé au cours de toutes nos expériences avait la composition suivante : NaCl : 6,5 g; KCl : 0,14 g; $CaCl^2$: 0,12 g; CO^3NaH : 0,2 g; eau distillée : q.s. pour 1 litre.

Ce milieu est éminemment favorable en été; d'emblée, on enregistre un tracé très régulier, ample et rapide.

Dans ces nouvelles conditions, l'excitation du nerf cardiaque détermine, comme action principale, un renforcement très marqué de l'amplitude des contractions, avec, parfois, un léger effet chronotrope positif. L'effet inotrope positif est accompagné d'une hausse simultanée des deux tonus, plus marquée pour le tonus systolique que pour le tonus diastolique.

L'excitation étant poursuivie, le myocarde se relâche progressivement, mais l'effet inotrope positif se maintient, même au-delà de la durée de l'excitation.

Le début de l'excitation est marqué par une hausse considérable des deux tonus, de courte durée, qui s'inscrit en forme de *clocher* dont la pointe domine très nettement l'ensemble du tracé général (fig. 43).

Cette réaction du cœur d'Escargot à la distension liquidienne n'est pas propre à cette espèce animale.

CHIBA, M. (**52**) signale le même phénomène chez le Crapaud et la Grenouille lorsque le cœur est distendu par l'introduction de liquide dans la canule de perfusion.

2) *Déterminisme de cette réponse paradoxale :*

Lorsque le cœur est monté sur canule de Straub et perfusé par du Ringer, on peut considérer que deux facteurs ont été modifiés et peuvent être rendus éventuellement responsables des effets aberrants observés : la distension du myocarde d'une part et la présence d'un liquide physiologique de composition trop différente de celle de l'hémolymphe d'autre part.

α) *Etude de l'influence de la distension.*

Nous avons vu que la simple élongation du myocarde, suspendu au levier inscripteur, n'empêchait pas l'effet chronotrope négatif de se produire lors de la faradisation du nerf viscéral; seul le niveau de l'arrêt diastolique se faisait à des hauteurs variables.

Pour nous replacer dans des conditions de distension comparables à celles réalisées au cours de la perfusion du ventricule monté sur canule de Straub, mais en l'absence de liquide physiologique, nous avons remplacé ce dernier par de l'air. Pour cela, l'extrémité olivée d'un tube de verre effilé est introduite dans la

cavité ventriculaire, et maintenue en place par une ligature portant sur le sillon auriculo-ventriculaire. Cette fine canule était reliée, par l'intermédiaire d'un tube souple, à un dispositif manométrique permettant d'insuffler dans le ventricule de l'air sous des pressions connues. Le levier inscripteur est mis en relation avec l'organe suivant la façon habituelle, une pince serre-fine portant sur la base du ventricule.

Des excitations faradiques d'intensité constante sont portées sur le nerf viscéral pour différentes valeurs de la pression intraventriculaire.

Dans ces conditions, il est possible d'observer que l'effet chronotrope négatif se maintient, quelles que soient les pressions atteintes ne dépassant pas la limite de résistance de la paroi myocardique. L'effet tonotrope négatif subsiste également, tant que les possibilités d'extension du myocarde ventriculaire ne sont pas poussées à leur limite. Au-delà de cette valeur, le myocarde réagit par un effet tonotrope positif.

β) *Etude de l'influence de la composition du liquide de perfusion*

Le ventricule, monté sur canule suivant la technique habituelle, est perfusé non plus, par du liquide physiologique à trois cations, mais par de l'hémolymphe, prélevée sans mucus par ponction des sinus périviscéraux.

L'activité de l'organe, en présence de ce milieu de perfusion, est sensiblement plus lente que celle notée avec le liquide physiologique habituel.

L'excitation du nerf viscéral entraîne très régulièrement l'effet chronotrope négatif habituel, accompagné de l'effet tonotrope classique, plus ou moins marqué suivant la charge liquidienne imposée aux parois ventriculaires.

Il semble donc bien que c'est la présence d'un liquide de perfusion artificiel qui soit à l'origine des effets anormaux observés au cours de la faradisation du nerf viscéral, sur les cœurs montés sur canule de Straub.

La solution de type Ringer que nous utilisions ne se montre donc « physiologique » que dans des conditions très particulières; elle permet de conserver au myocarde son activité rythmique, mais modifie profondément ses réactions aux influx nerveux extrinsèques.

La composition de la solution utilisée avait été établie de façon expérimentale par JULLIEN, A. (**116**) qui étudiait le comportement du ventricule de l'Escargot en présence de solutions salines variées.

Etant donnée la plasticité de l'organe et son adaptation à des milieux de composition différente, on pouvait se demander si la solution utilisée était vraiment de composition ionique voisine de celle de l'hémolymphe.

Rappelons que la solution employée avait pour composition : NaCl : 6,5 g; KCl : 0,14 g; $CaCl^2$: 0,12 g; eau : q.s. pour 1 litre ce qui, au point de vue rapport ionique, correspond à A/AT = 110 et Na/K = 60. La concentration globale d'une telle solution, exprimée en grammes de NaCl dissous dans une solution de même pouvoir osmotique que ce Ringer, équivaut à 6,7 g NaCl.

Le dosage des ions dans l'hémolymphe par la technique du photomètre de flamme montre que si la concentration globale n'a rien de constant d'un animal à l'autre, par contre les rapports moléculaires sont remarquablement fixes. Ainsi, on a Na/K = 28 et A/AT = 10, pour des pouvoirs osmotiques équivalents

à ceux de solutions de NaCl comprises dans les valeurs limites de 5,7 et 8,5 g par litre.

Or une telle solution artificielle, de rapports A/AT et Na/K indiqués, introduite dans la canule de perfusion, se comporte comme du Ringer ordinaire : on observe régulièrement l'effet inotrope positif accompagné du « clocher ».

Il apparaît donc que la seule composition ionique du milieu de perfusion ne rend pas compte des effets anormaux enregistrés au cours de la faradisation du nerf viscéral.

L'hémolymphe diffère de ces milieux artificiels par la présence de protéines sanguines auxquelles il faut reconnaître le pouvoir de conserver ses propriétés fonctionnelles au nerf viscéral.

Dans une deuxième série d'essais, nous avons tenté d'établir jusqu'à quelle concentration ces protéines continuaient de maintenir les réactions vagales habituelles du myocarde.

Au moyen d'une solution A/AT = 10 et Na/K = 28, nous avons amené l'hémolymphe aux dilutions de 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16.

Toutes ces dilutions conservent au nerf ses propriétés chronotropes et tonotropes négatives au niveau du cœur à l'exception de la dilution du 1/16 qui semble à la limite des solutions vraiment physiologiques.

3) *Conclusions :*

La perfusion du ventricule de l'Escargot, monté sur canule de Straub, au moyen de solutions physiologiques salines, ne conserve pas les fonctions normales du système nerveux extrinsèque : la présence de protéines sanguines est indispensable au maintien de celles-ci.

d) Répartition, a l'intérieur du myocarde, des différents types de fibres constituant le nerf viscéral

Si l'examen direct est incapable de nous renseigner sur l'existence d'une innervation ventriculaire arrivant au ventricule par l'oreillette et le sillon auriculo-ventriculaire, l'étude physiologique par contre, est d'un grand recours pour trancher la question. Déjà Carlson, A.J. (**47**) avait indiqué, dans ses travaux portant sur l'innervation du cœur de l'Escargot, que, d'après les réponses de l'organe à l'excitation faradique du nerf intestinal, des fibres accélératrices arrivaient au ventricule par l'aorte et que l'oreillette en recevait également par sa base; de plus, il signalait que le ventricule recevait des fibres inhibitrices et par la pointe, et par le sillon auriculo-ventriculaire.

Nous nous sommes attachés à préciser les territoires cardiaques contrôlés par les nerfs auriculaire et ventriculaire.

En premier lieu, il importait de savoir si les fibres, arrivant respectivement à l'oreillette et au ventricule, se distribuaient uniquement à ces étages, ou, si elles passaient à l'étage voisin par le sillon auriculo-ventriculaire.

Pour cela, il fallait éliminer, pour l'étage étudié, son innervation évidente, lui arrivant par son nerf propre, et conserver la jonction auriculo-ventriculaire, voie de pénétration éventuelle des fibres nerveuses vers l'étage considéré. Bien entendu, l'étage voisin et ses connexions nerveuses étaient respectés.

Dans ces conditions, on ne pouvait songer enregistrer, directement et à l'état pur, les contractions de la portion cardiaque intéressante en la suspendant au levier inscripteur, car l'étage voisin, par l'intermédiaire duquel elle est rattachée à l'animal, continue de pulser sur son rythme propre pendant toute la durée de l'expérience.

Aussi, pour éliminer ces contractions parasites, dans toutes nos expériences portant sur cette question, avons-nous adopté un dispositif expérimental particulier : le sillon auriculo-ventriculaire du cœur de l'Escargot était maintenu contre un petit tuteur fixe au moyen d'une ligature assez peu serrée pour ne pas écraser les tissus sous-jacents, mais suffisante pour contenir les contractions de l'étage non en expérience (fig. 20).

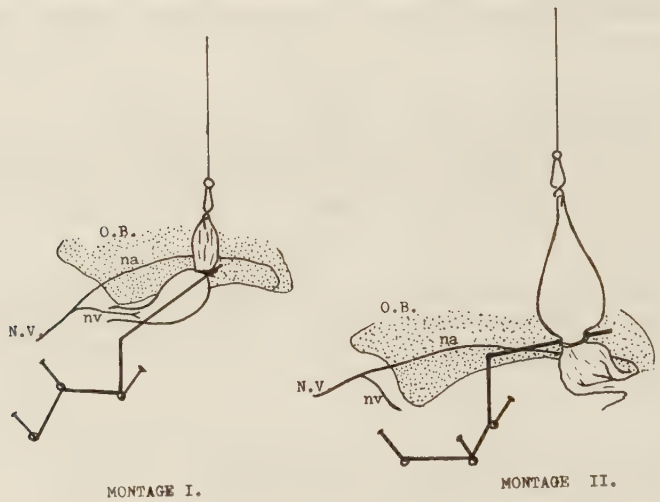

FIGURE 20. — Techniques de montage du cœur d'Escargot.

Montage I. — L'oreillette est sectionnée au niveau du débouché de la veine pulmonaire. Le sillon auriculo-ventriculaire est maintenu contre un petit tuteur fixe, au moyen d'une ligature peu serrée. Le levier inscripteur, relié à l'oreillette, n'enregistre que les contractions de cet étage. Le nerf auriculaire est sectionné : seules les fibres ventriculaires arrivent au cœur. La faradisation du nerf viscéral permet de vérifier si l'oreillette reçoit des fibres nerveuses par l'intermédiaire du nerf ventriculaire.

Montage II. — Dans ce montage, les contractions ventriculaires sont seules enregistrées. Le ventricule est sectionné au niveau de la pointe, le sillon auriculo-ventriculaire maintenu contre le tuteur. Seul, le nerf auriculaire arrive au cœur. La faradisation du nerf viscéral met en évidence l'arrivée au ventricule de fibres auriculaires passant par l'oreillette.

1) *Etude des réactions vagales de l'oreillette, en liaison physiologique avec le ventricule, et détachée au niveau de sa jonction avec la veine pulmonaire* (fig. 20, I)

Si, dans ce montage, la faradisation du nerf viscéral provoque des modifications du rythme auriculaire, il sera établi que l'oreillette reçoit une partie de son innervation extrinsèque par le nerf ventriculaire, la masse du ventricule et le sillon auriculo-ventriculaire.

En fait, l'excitation du nerf viscéral montre que l'oreillette ainsi préparée, n'est nullement affectée dans son automatisme.

Ainsi, le nerf ventriculaire n'envoie ses fibres que dans le territoire ventriculaire.

2) *Etude des réactions vagales du ventricule, en liaison physiologique avec l'oreillette et détaché au niveau de son prolongement aortique* (fig. 20, II)

Par ce montage, la seule voie possible aux éventuelles fibres nerveuses destinées au ventricule, est représentée par le nerf auriculaire, l'oreillette et le sillon auriculo-ventriculaire.

L'excitation du nerf viscéral, sur toute sa longueur, entraîne des effets particuliers au niveau du ventricule.

Ce dispositif expérimental permet donc de montrer, tout d'abord, que le *nerf auriculaire* contient des fibres centrifuges, non seulement pour l'oreillette, mais également pour le ventricule.

Les manifestations vagales obtenues dans ces conditions consistent en des effets tonotropes et inotropes négatifs. Dans aucun cas, nous n'avons pu observer d'effet chronotrope négatif. Les systoles qui continuent de se former au cours de l'action du nerf viscéral, ont une fréquence égale à la fréquence normale. Par contre leur amplitude est notablement réduite et stable tant que dure l'excitation du nerf.

L'observation directe du ventricule, au cours de ce type d'inhibition, permet de constater qu'il se montre constitué de deux parties physiologiquement distinctes : la pointe, qui est le siège de l'activité rythmique normale, et la base qui est totalement inhibée. Les incitations de la pointe s'éteignent dans la masse du myocarde. En plus, la base semble complètement distendue sous l'effet du poids du levier enregistreur.

L'effet inotrope négatif enregistré provient donc de l'élimination d'une partie du ventricule (la base) qui ne participe plus à la systole de l'organe. Par son aspect relâché, cette moitié ventriculaire semble, *a priori*, être le siège des manifestations tonotropes négatives enregistrées.

La pointe, par contre, continue de manifester une activité rythmique soutenue, de fréquence inchangée par rapport à la fréquence normale. Etant donné ce que nous savons du gradient d'automatisme des différentes portions du cœur, tout permet de penser ici que la pointe du ventricule représente le centre d'initiation des contractions rythmiques de l'étage, puisque la suppression fonctionnelle de la base ne perturbe pas la fréquence apicale.

La base, en dépit de sa structure musculaire irradiée en éventail qui semble être la disposition optimale pour permettre un contrôle efficace de l'activité se la totalité de l'étage, ne paraît pas constituer le centre d'initiation des contractions ventriculaires chez l'Escargot.

3) *Conclusions*

Au cours de ces différents montages, nous avons pu mettre en évidence :

1° Que l'oreillette recevait une innervation extrinsèque dont la totalité des fibres nerveuses passait par le nerf auriculaire uniquement.

2° que le ventricule recevait ses nerfs inhibiteurs,
d'une part, par le *nerf ventriculaire*
d'autre part, par le *nerf auriculaire*.

Au cours de la faradisation du nerf viscéral, les fibres qui arrivent par le *nerf ventriculaire*, provoquent l'inhibition complète du ventricule. Les systoles sont arrêtées et le tonus du myocarde se relâche profondément.

Par contre, les fibres passant par le *nerf auriculaire* et destinées au ventricule, ne produisent jamais l'arrêt de l'organe. Les systoles continuent de se produire très régulièrement, sur une fréquence égale à la fréquence normale, mais avec une amplitude diminuée. La chute de tonus est constante et profonde.

L'examen direct montre, à ce moment, que les systoles régulières émanent de la pointe du ventricule, et se propagent vers la base qui reste totalement inerte.

L'interprétation de ces expériences nous conduit à admettre que le ventricule de l'Escargot se montre fonctionnellement divisé en deux parties : la pointe et la base.

Contrairement aux données classiques de la Physiologie, et en opposition avec la structure de l'organe, l'onde de contraction du ventricule se propage en sens inverse du courant sanguin : la pointe semble être le centre d'initiation des contractions ventriculaires.

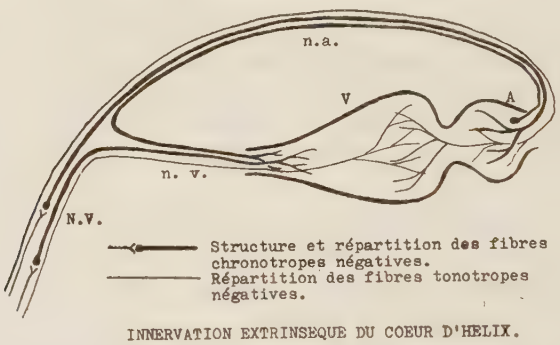

FIGURE 21. — Répartition des fibres constitutives du nerf viscéral dans le cœur de l'Escargot.

Le *nerf auriculaire* renferme des fibres inhibitrices destinées au ventricule, qui passent par l'oreillette et le sillon auriculo-ventriculaire.

L'action de ces fibres sur le ventricule est purement tonotrope négative. Elles ne sont pas capables de suspendre l'activité rythmique de la pointe. Par contre, elles entraînent l'inhibition de la base qui devient imperméable aux ondes de contraction, ce qui provoque une diminution de l'amplitude des systoles.

Les fibres ventriculo-inhibitrices du *nerf auriculaire* sont donc destinées uniquement à la base du ventricule.

Le *nerf ventriculaire* entraîne les effets chronotrope et tonotrope négatifs classiques. Ses fibres constitutives agissent donc sur le centre d'initiation, c'est-à-dire, sur la pointe ventriculaire.

Si, comme nous l'avons étudié précédemment, il faut reconnaître des substrats anatomiques différents aux effets chronotrope et tonotrope négatifs des nerfs de

type vagal, il faut admettre que les fibres tonotropes négatives sont destinées à des territoires autres que le centre d'initiation : donc elles se rendent à la base.

La base serait le siège des effets tonotropes négatifs enregistrés, et le contingent de fibres tonotropes négatives passant par le *nerf ventriculaire*, ainsi qu'une partie des fibres tonotropes négatives passant par le *nerf auriculaire* (le reste étant destiné à l'oreillette), lui seraient destinés.

Cette étude théorique des deux moitiés transversales du ventricule méritait d'être refaite avec des moyens d'enregistrement spéciaux, afin de mettre nettement en évidence les propriétés particulières que nous avions reconnues à chacune de ces portions cardiaques, tant dans les conditions normales de fonctionnement de l'organe, qu'au cours de la faradisation du nerf viscéral.

e) Etude des réactions des deux moitiés transversales du ventricule pendant la systole normale et pendant l'inhibition vagale

1) *Techniques*

Le dispositif enregistreur le plus simple comporte deux leviers inscripteurs de même coefficient d'amplification, et de même longueur; leur stylet se déplace sur la même génératrice du cylindre enfumé [Ripplinger, J. (**226**)] (fig. 22, I et II).

Un des leviers est relié au ventricule par une serre-fine posée au niveau de la section. Ce stylet donnera l'enregistrement des contractions du ventricule entier.

Le deuxième levier enregistreur est relié à la région moyenne de l'organe et inscrit les systoles relatives à la portion de myocarde comprise entre son point d'application et le point fixe de la préparation (1).

Connaissant le comportement de l'organe entier et celui d'une de ses moitiés, il est facile, par soustraction géométrique, de reconstituer, par points, l'aspect de la courbe traduisant l'activité de la portion comprise entre les deux serre-fines.

Du point de vue théorique, l'opération est aisée; pratiquement elle est fastidieuse et il n'est guère possible de songer à étudier toute une série d'enregistrements par ce procédé. Cependant, au cours de l'enregistrement des contractions, on se rend aisément compte, par les mouvements des leviers plus que par le tracé proprement dit, des particularités de l'automatisme cardiaque.

Par la suite, nous avons mis au point un système d'inscription simultanée des

---

(1) En ce qui concerne la mise en place de la deuxième serre-fine, il importe de signaler un détail technique. Le ventricule est dans une position verticale, soutenu par le poids du premier levier inscripteur. Si l'on plaçait directement la deuxième serre-fine sur la région moyenne du ventricule, elle ne manquerait pas d'être happée par la tension superficielle de la mince couche liquide qui recouvre l'organe entier, et d'être appliquée contre la partie supérieure du ventricule. Aussi les tracés relatifs à la moitié inférieure de l'organe seraient-ils perturbés par les contractions de la moitié supérieure. Pour éviter ces interférences, nous avons eu l'idée d'éloigner cette serre-fine à 1 ou 2 mm. du myocarde en la faisant porter sur un fil d'argent passé au travers de la région moyenne du cœur. Cette dernière opération s'est révélée sans conséquences pour l'automatisme ventriculaire, le caractère des systoles ne se trouvant aucunement modifié par la présence de ce corps étranger. Seule sa nature semble avoir une grande importance : des fils d'acier inhibent le cœur, l'argent est sans effets.

activités respectives de la base et de la pointe du ventricule, sans que les contractions de l'une de ces portions n'interfèrent avec celles de l'autre [RIPPLINGER, J. (227)]. Ce dispositif comporte également deux leviers inscripteurs de même longueur et de même coefficient d'amplification. Son principe découle de considérations géométriques très simples.

Le problème est le suivant : le premier levier inscripteur doit donner le tracé des contractions de la pointe seule, par exemple; le deuxième devra donc donner celui relatif à l'activité de la base.

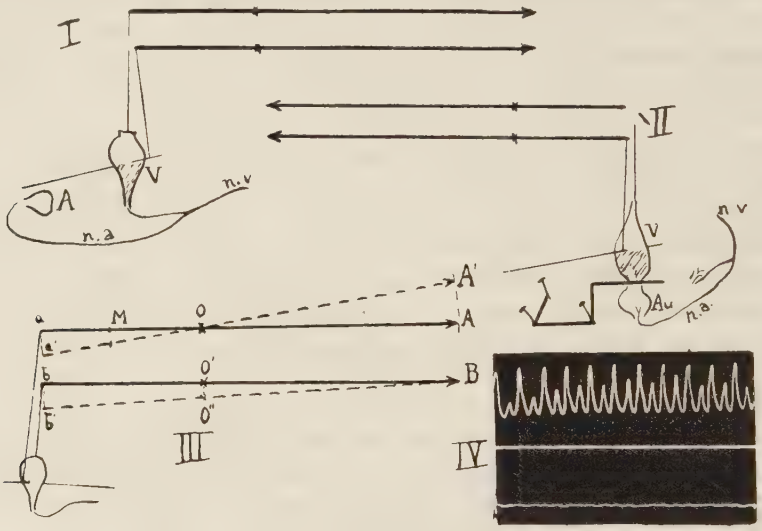

FIGURE 22.

En I et II, on a utilisé deux leviers inscripteurs reliés au ventricule, l'un à mi-étage, l'autre au niveau de la section. Le ventricule reste innervé tantôt par la pointe (en I), tantôt par la base (en II); dans ce dernier cas, les contractions auriculaires sont contenues par un tuteur fixe contre lequel est ligaturé, sans serrage des tissus, le sillon auriculo-ventriculaire.

En III, schéma du double inscripteur permettant d'inscrire simultanément les activités isolées de la pointe et de la base du ventricule. En supposant que la base soit inerte, la contraction de la pointe amène l'extrémité du levier supérieur de A en A'. Le levier inférieur, censé tracer l'activité de la base, doit conserver son extrémité B immobile alors que la contraction de la pointe amène b en b', Donc le levier inférieur pivote autour de B et son axe d'oscillation O' passe, au cours de ce déplacement, en O''. Il est possible de trouver, sur le levier supérieur, entre O et a, un point M tel qu'associé à O', l'extrémité B reste immobile pendant la contraction qui amène a en a' et b en b'.

En IV, tracé témoin fourni par les deux stylets inscripteurs, les pinces serre-fines étant appliquées au même point du ventricule. Tracé supérieur relatif à l'activité de l'organe; le tracé inférieur est légèrement ondulé.

Supposons, pour fixer les idées, que le ventricule en expérience soit suspendu, la base en haut, le sillon auriculo-ventriculaire sectionné (fig. 22, III).

Pour simplifier le raisonnement, on peut supposer la base inerte. Dans ces conditions, le stylet inscripteur qui est censé enregistrer son activité, devra tracer une horizontale sur le cylindre enfumé.

Appelons O et O' les axes d'oscillation des deux leviers, *a* et *b* les points d'application, aux leviers, des mouvements des deux portions du ventricule, transmis par les pinces serre-fines.

En tirant sur *Oa*, la pointe amène le levier en position *Oa'*.

Puisque la base, comme nous l'avons supposé, est inerte, la pointe amène du même coup le levier $O'b$ en $O'b'$. Dans tous les cas, on aura $aa' = bb'$.

Le stylet inscripteur A tracera la courbe AA'. Si O' était fixe, le stylet B décrirait BB' tel que $AA' = BB'$.

Puisque la base est immobile, B ne doit pas bouger tandis que b se déplace en b'; autrement dit, il y aura rotation autour de B, amenant b en b'. La même rotation amènera l'axe O' en O''.

Ce déplacement $O'O''$ est inférieur à bb', donc à aa'. Il est possible de trouver entre O et a, un point M dont le déplacement, au cours de la rotation amenant a en a', aura même valeur que $O'O''$. Il suffira donc d'associer l'axe O' à ce point du levier Oa, pour que l'extrémité B reste immobile pendant le déplacement de b.

La réalisation pratique de ce dispositif est beaucoup plus délicate, surtout dans la manière de réunir le point déterminé sur le bras de levier Oa avec l'axe d'oscillation O'. Nous avons pour cela, interposé un troisième bras de levier soutenant le stylet inscripteur mobile, en tenant compte du facteur d'amplification de ce levier intermédiaire pour transmettre à l'axe O', le déplacement recherché.

L'ensemble du système inscripteur est fragile mais parfaitement utilisable en prenant quelques précautions.

On peut vérifier la valeur des résultats que fournit l'appareil en attelant les deux leviers inscripteurs à un même point mobile (par exemple un ventricule en train de se contracter). Tandis que le levier supérieur trace le mécanogramme de l'organe, le levier inférieur trace sensiblement une droite horizontale (en fait, on obtient une courbe très légèrement ondulée) (fig. 22, IV).

Dans l'étude du ventricule que nous avons menée avec ce dispositif, le levier supérieur était relié à la région moyenne de l'étage, toujours par le même artifice du fil d'argent passé au travers du myocarde, le levier inférieur était relié à l'extrémité libre de l'organe, la serre-fine posée au niveau de la section.

2) *Résultats*

α) *Etude des contractions ventriculaires normales* **(229)**

L'enregistrement, à grande vitesse, du déroulement des systoles normales montre que la contraction apicale précède régulièrement la contraction de la base (fig. 23, I).

Le décalage entre les deux contractions (mesuré, sur la figure par le décalage des crêtes des deux tracés), a comme valeur moyenne 7/10 seconde.

Ainsi, sur le ventricule de l'Escargot, il apparaît, de façon indiscutable, que le centre d'initiation des contractions se trouve situé, non à la base, comme la structure de l'organe aurait pu le faire penser, mais à la pointe. Les déductions théoriques que nous avions tirées de l'interprétation des effets d'inhibition ventriculaire après section du nerf ventriculaire ou auriculaire, se trouvent confirmées directement. Les fibres chronotropes négatives, responsables de l'arrêt des systoles ventriculaires au cours de l'excitation du nerf viscéral, se rendent uniquement à la pointe, puisque celle-ci joue le rôle de *primum movens*.

A partir de ce point, l'onde de contraction se propage au reste du ventricule, à la base, dans un sens inverse de celui du courant sanguin.

Ce fait, en lui-même, est assez peu fréquent en physiologie cardiaque pour mériter d'être signalé. La nécessité d'une conduction orientée dans le sens du courant sangin est admise chez tous les animaux; il n'y a que pour les cœurs à une cavité que BETHE, A. **(20)** reconnaît que cette condition ne serait pas

indispensable, puisque la contraction de la seule zone pulsatile a pour effet de chasser le sang toujours dans le même sens, grâce aux systèmes de valvules qui limitent la portion active de l'arbre circulatoire. Le ventricule de l'Escargot remplit donc parfaitement les conditions requises : il possède deux systèmes de valvules qui orientent la progression de l'hémolymphe du poumon vers le corps de l'animal. L'oreillette, nous l'avons vu, n'est pas limitée vers la veine pulmonaire.

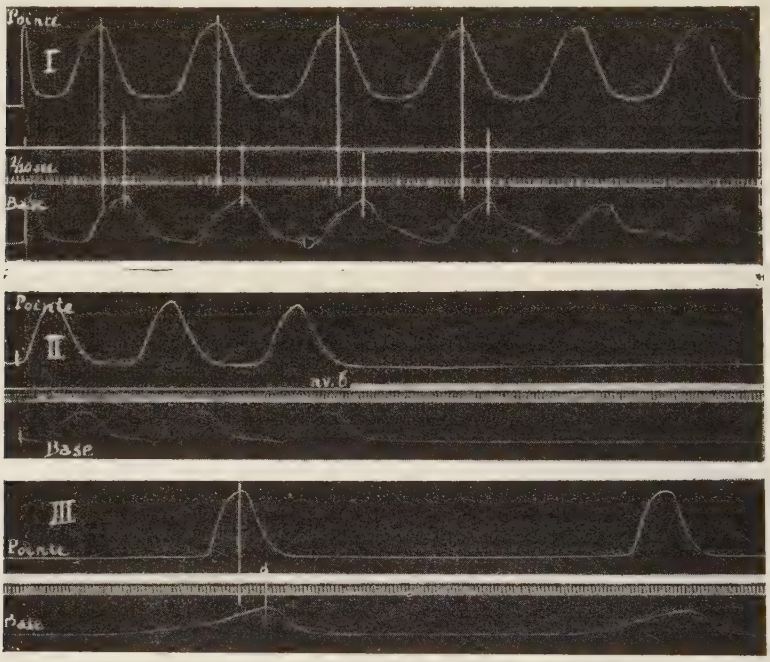

FIGURE 23.

En I, inscription simultanée de l'activité de la pointe et de la base du ventricule fonctionnant normalement. A noter le retard des contractions basales sur les contractions apicales.

En II et III, inscription des activités basale et apicale au cours de l'excitation du nerf viscéral.

En III (suite de II), les contractions apicales sont précédées d'une lente montée tonique au niveau de la base. La contraction apicale débute brusquement, contrastant ainsi avec les contractions apicales normales.

Il n'est guère possible d'invoquer, pour expliquer cette particularité de l'automatisme ventriculaire, les conditions anormales dans lesquelles se trouve placé le cœur au cours de nos expériences; cette objection étant applicable à toute expérience physiologique en général, il n'y a pas de raison de la réserver plus particulièrement à celles que nous avons menées.

D'autre part, un traumatisme (si traumatisme il y a) aussi peu important que celui qui consiste à pratiquer une fenêtre dans la coquille au niveau du cœur, laisse voir, au travers du feuillet péricardique intact, que sur le cœur *in situ*, la pointe est le siège d'une activité rythmique qui précède celle de la base. Bien plus, pendant les périodes où le ventricule semble quiescent (périodes où l'afflux

sanguin est réduit) la pointe présente encore des contractions qui restent localisées au niveau du prolongement aortique du ventricule.

A la suite de ces observations, nous avons, à titre de vérification, pratiqué sur des ventricules d'Escargot, isolés et montés sur des canules de Straub, des points de cautérisation localisés en des régions précises de l'organe.

Les atteintes du myocarde, au niveau de la base, si elles modifient l'amplitude des contractions, n'en changent cependant pas la fréquence.

Celles de la pointe, par contre, la perturbent de façon irréversible. Après une période d'inhibition de durée variable, les systoles se font sur un rythme de moins en moins rapide, à mesure que la zone cautérisée atteint des portions de plus en plus étendues de la pointe.

A la limite, quand seule la base est restée intacte, les contractions qui subsistent présentent souvent un caractère d'irrégularité qui pourrait faire penser aux manifestations de « l'*automatisme sauvage* » du cœur des Vertébrés. Nous aurons l'occasion de revoir ce type d'activité lors de l'étude pharmacodynamique de l'acétylcholine sur les diverses portions de ventricule.

Pour paradoxales que puissent paraître de prime abord cette genèse des contractions et cette conduction antidromique, elles ne sont pourtant pas en contradiction formelle avec ce que l'on sait de la physiologie du cœur de l'Escargot, et en particulier avec le mécanisme de la coordination auriculo-ventriculaire, tel que l'a proposé FREDERICQ, H. (**81**).

Pour cet auteur, l'étirement passif du ventricule, sous l'influence de la systole auriculaire, a pour effet de diminuer la chronaxie du myocarde ventriculaire qui devient ainsi plus excitable. Etant données la morphologie du ventricule de l'Escargot d'une part, l'épaisseur de la paroi de la base, considérable par rapport à celle de la pointe d'autre part, il semble presque évident que c'est la pointe qui subit l'étirement maximum, alors que la base, beaucoup plus compacte, n'est pratiquement pas déformée au cours des systoles auriculaires.

Ainsi, cette théorie rendrait fort bien compte des propriétés excitomotrices de la pointe, dans le cas d'un ventricule à structure homogène, dont les différentes portions auraient même structure histologique et mêmes propriétés physiologiques.

En fait — nous l'avons déjà fait remarquer — les expériences de JULLIEN, A., MORIN, G. et BLANC, H. (**121**) établissent indiscutablement l'inéquivalence des différents lambeaux de myocarde ventriculaire.

Par ailleurs, nos propres observations sur les coupes histologiques du ventricule de l'Escargot, nous ont révélé deux types de fibres musculaires : les unes, hautement différenciées, formant la couche superficielle des travées longitudinales; les autres riches en sarcoplasme, à gros noyau et à fibrilles peu abondantes, constituant la couche profonde des fibres circulaires. Cette couche constitue à elle seule la pointe du ventricule. On retrouve ces mêmes formations cellulaires, de plus en plus disséminées lorsqu'on remonte vers la base.

Ainsi, il semble que la zone d'initiation des contractions, de même que le tissu conducteur intracardiaque, soient représentés, chez l'Escargot, par des éléments cellulaires ayant des caractéristiques histologiques voisines de celles du tissu nodal chez les Vertébrés.

Remarque : il est arrivé à notre connaissance, en cours de rédaction, un travail de DIVARIS, G.A. et KRIJGSMAN, B.J. (**59**) dans lequel ces auteurs, chez *Achatina zebra* (Pulmoné africain), établissent, par des expériences de cautérisation, d'application de Ringer congelé en différents points du cœur de l'animal, que chez cette espèce, l'initiation des contractions ventriculaires se fait au niveau de la pointe.

De plus, ils mentionnent un travail déjà ancien de ZUBKOV, A.A. (**273**, **274**) (1934) signalant le même fait chez *Helix pomatia*.

Enfin, toujours chez cette même espèce, par les mêmes techniques de cautérisation ou de refroidissement, ils montrent qu'il convient de reconnaître dans le cœur un centre cardio-inhibiteur situé dans la première partie de l'oreillette.

Avant de quitter ce sujet de la conduction intraventriculaire, il nous reste à signaler la différence existant entre nos résultats expérimentaux et ceux obtenus par JULLIEN, A. et VAIREL-BLANC, H.; la technique opératoire et les résultats obtenus par ces auteurs ont fait l'objet d'un rappel historique; nous n'y reviendrons pas.

A notre avis, le refroidissement auquel étaient soumis les cœurs en expérience constitue certainement un obstacle sérieux à la propagation de l'onde d'excitation au travers du myocarde. Vraisemblablement, les travées musculaires qui rayonnent de la base vers le reste du cœur, sont moins atteintes par le froid que les voies de conduction, et leur excitation directe suscite une contraction qui s'étend superficiellement à tout l'organe.

Il est donc possible que le froid atteigne de façon élective le tissu nodal de l'Escargot, comme le fait est signalé par RIJLANT, P. (**223**) chez les Vertébrés (Mammifères) où le froid altère le fonctionnement du tissu spécifique; en particulier, la conduction intra-auriculaire serait ralentie ou totalement inhibée sous son influence.

β) *Etude des réactions des deux moitiés transversales du ventricule pendant l'excitation vagale*

Dans cette série d'expérience avec enregistrement double, nous avons opéré sur le ventricule suspendu, détaché tantôt de l'oreillette par section du sillon auriculo-ventriculaire, tantôt de son prolongement aortique. Dans ces dernières conditions, les contractions auriculaires étaient contenues par un petit tuteur fixe contre lequel était ligaturé le sillon auriculo-ventriculaire (fig. 22, I et II).

— *Le ventricule est détaché par section du sillon auriculo-ventriculaire* (fig. 22, I).

L'arrêt du ventricule se produit quelquefois en simple diastole; le tracé que nous rapportons (fig. 23, II) montre un arrêt prolongé de la totalité de l'étage; la première contraction qui représente la manifestation de l'échappement ventriculaire à l'action vagale, débute apparemment au niveau de la base (fig. 23, III). Celle-ci amorce une longue montée tonique qui, dans certains cas, peut durer deux à trois secondes, tandis que la pointe reste toujours inerte. A partir d'un certain niveau tonique basal, la contraction de la pointe « éclate », comme on peut s'en rendre compte par l'angle qui marque l'ascension de la courbe apicale. Souvent, le tracé de la pointe révèle un léger plateau systolique, ou tout au moins, les systoles apicales s'inscrivent avec des crêtes plus émoussées que les systoles normales.

La base, pendant ces extrasystoles, après avoir amorcé la montée tonique, fournit une contraction apparemment normale. Il ne semble pas que l'excitation du nerf viscéral entraîne une augmentation de l'intervalle de temps compris entre les crêtes des systoles apicale et basale au cours d'une même contraction; autrement dit, il n'y aurait pas d'action dromotrope négative sensible.

Ai côté de ce type de réaction ventriculaire, il en est d'autres non moins fréquents.

L'excitation faradique du nerf viscéral, dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment, entraîne l'arrêt du cœur; mais la pointe en général accuse une forte montée de tonus, de sorte que son niveau d'arrêt correspond au niveau de tonus systolique des contractions apicales normales (fig. 24).

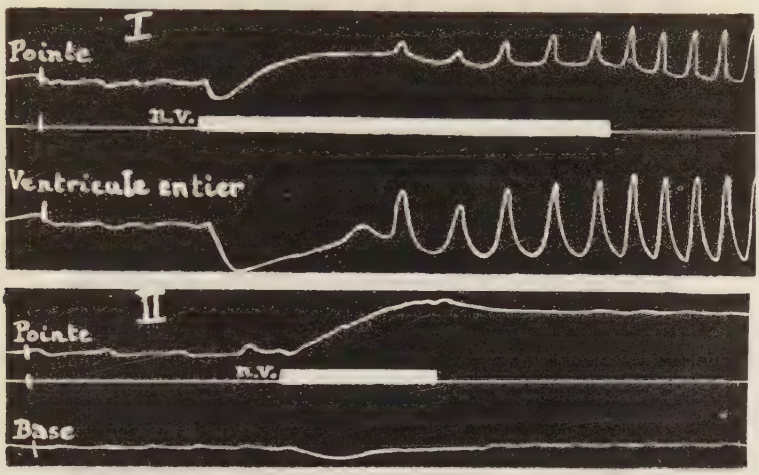

FIGURE 24. — Le ventricule est préparé comme le montre la figure 22, en I, la base en haut.

En I, tracé supérieur relatif à la pointe; tracé inférieur relatif au ventricule entier. L'excitation faradique du nerf viscéral entraîne l'arrêt en systole de la pointe, tandis que l'organe entier présente un relâchement assez marqué qui ne peut provenir que de la base.

En II. — Le ventricule est suspendu la base en haut. Système de double enregistrement analogue à celui indiqué sur la figure 22, en III.

Tracé supérieur relatif à la pointe seule; tracé inférieur relatif à la base seule. La pointe se systolise pendant l'excitation du nerf viscéral tandis que la base s'allonge.

La base, pendant ce temps, peut également présenter une montée tonique, mais en général, elle est beaucoup moins accusée.

Le plus souvent, la base se relâche plus ou moins profondément au cours de la systolisation apicale.

Ce comportement de la base, se traduit, sur la réaction globale de l'organe, par l'effet tonotrope négatif signalé plus haut, qui résulte donc de la composition d'un effet tonotrope positif de la pointe, compensé largement par celui, négatif, de la base.

Au cours de toutes nos expériences, nous avons pu constater que seule la base est capable de présenter des phénomènes de relâchement tonique, l'arrêt de la pointe s'effectuant généralement en systole, ou tout au moins en simple diastole.

Enfin, dans quelques cas, l'échappement peut se faire avec précession des contractions basales sur les contractions apicales. Les systoles qui apparaissent dans ces conditions sont alors extrêmement irrégulières en amplitude et en fréquence, alors que dans le cas de l'échappement accompagné de précession des contractions apicales sur les contractions basales, les systoles se reproduisent à intervalle régulier et leur amplitude est sensiblement constante.

Il ne fait aucun doute que dans le premier cas, la pointe est fortement inhibée, ainsi que tous les centres vicariants possibles, et que la base présente un « *automatisme sauvage* » non coordonné (fig. 25, I).

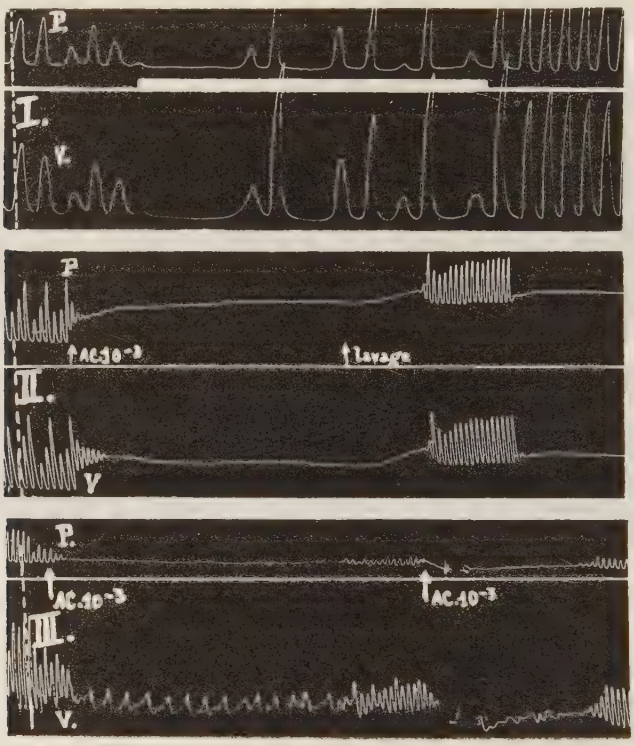

FIGURE 25.

Tracé I. — Enregistrement des contractions apicales et de l'organe entier, sur un ventricule monté comme sur la fig. 22, en I. L'excitation du nerf viscéral entraîne l'arrêt de la pointe en diastole. L'échappement se fait sur un mode très irrégulier.

Tracé II. — Action de l'acétylcholine à 10^{-3}, appliquée uniquement au niveau de la pointe (on vérifie la zone d'action de la drogue en colorant la solution au rouge neutre par exemple). Toute activité rythmique du ventricule est suspendue, bien que la base n'ait pas été atteinte.

Tracé III. — Application d'acétylcholine à 10^{-3} sur la pointe, l'activité rythmique du cœur est supprimée. La base manifeste un « automatisme sauvage » très irrégulier; la reprise spontanée des contractions apicales entraîne la base dans un nouveau rythme d'activité.

Dans le second cas, c'est la pointe qui échappe à l'action vagale et reprend la direction des contractions synergiques des fibres myocardiques (revoir fig. 11, III, p. 46).

— *Le ventricule est détaché par section de son prolongement aortique, le sillon auriculo-ventriculaire maintenu contre un petit tuteur fixe.*

L'excitation du nerf auriculaire ou du nerf viscéral provoque parfois l'arrêt de la base, accompagné de son relâchement diastolique plus ou moins profond. La pointe, par contre, conserve son automatisme de fréquence et d'amplitude inchangées (fig. 26, I).

Dans le cas où l'inhibition de la base n'est pas totale, l'amplitude de ses contractions est fortement réduite, et l'effet tonotrope négatif est constant.

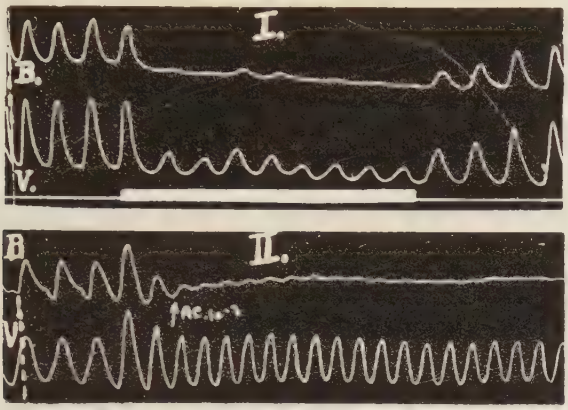

FIGURE 26. — Le ventricule est suspendu la pointe en haut, le sillon auriculo-ventriculaire maintenu contre un tuteur fixe. (Voir fig. 22, en II).

En I, tracé supérieur relatif à la base, tracé inférieur relatif au ventricule entier. Pendant l'excitation du nerf viscéral, la base est complètement inerte, tandis que l'organe entier présente encore des contractions qui ne peuvent provenir que de la pointe.

En II, tracé supérieur relatif à la base, tracé inférieur relatif au ventricule entier. Inhibition de la base au moyen d'une solution d'acétylcholine à 10^{-3} appliquée *in situ* par voie interne. La pointe conserve son automatisme pendant l'arrêt de la base.

γ) *Analyse de l'action cardio-inhibitrice de l'acétylcholine sur le ventricule de l'Escargot*

L'acétylcholine, par ses actions pharmacodynamiques, sur le cœur de l'Escargot, ne peut pas être homologuée au médiateur éventuel des influx cardio-inhibiteurs.

Cependant, cette drogue, utilisée en solutions à fortes concentrations, entraîne, sur le ventricule d'*Helix pomatia*, deux effets distincts : un arrêt des contractions (effet chronotrope négatif) et une montée systolique considérable (effet tonotrope positif).

L'action des solutions d'acétylcholine sur le cœur est fugace, en raison, vraisemblablement, de leur hydrolyse par les cholinestérases de l'animal.

A cause de son action cardio-inhibitrice passagère, il nous a paru intéressant d'utiliser cette drogue en application locale, sur le ventricule d'Escargot suspendu, *in situ*, de façon à bloquer électivement certains territoires ventriculaires, et d'enregistrer les conséquences rythmiques de cette inhibition localisée.

Les différents montages utilisés pour enregistrer les contractions ventriculaires ont été décrits précédemment.

La solution d'acétylcholine utilisée était au taux de 10^{-3}, donc fortement inhibitrice. Pour déterminer rigoureusement les territoires ventriculaires atteints par la drogue, la solution était colorée par du rouge neutre.

Sur un ventricule monté depuis une vingtaine de minutes, la face externe de l'organe s'est légèrement desséchée, de sorte qu'une goutte de la solution d'acétylcholine, déposée sur cette face au moyen d'une fine baguette de verre, ne diffuse pas sur la totalité du myocarde, mais reste bien localisée à son point de dépôt.

L'application de cette solution au niveau de la pointe du ventricule entraîne immédiatement l'arrêt de l'étage entier, quel que soit le montage utilisé (fig. 25, II).

L'inhibition peut se prolonger plus ou moins longtemps. Finalement, les contractions reparaissent et la reprise de l'activité peut se faire, suivant les cas, selon deux modes principaux :

— ou bien les systoles sont irrégulières en amplitude et en fréquence. L'enregistrement montre que c'est la base du ventricule qui est à l'origine de ces contractions anarchiques, qui marquent un « *automatisme sauvage* » (fig. 25, III).

— ou bien les contractions reparaissent sur un mode régulier et l'enregistrement montre que la pointe représente leur lieu de formation.

C'est d'ailleurs l'activité de la pointe qui l'emporte finalement sur « l'*automatisme sauvage* » de la base, lorsque l'effet de l'acétylcholine disparaît par suite de l'hydrolyse de la drogue. C'est ce qu'établit le tracé III de la fig. 25.

Si l'on applique la même solution d'acétylcholine sur la base d'un ventricule détaché de son prolongement aortique, et à sillon auriculo-ventriculaire maintenu contre un tuteur fixe (montage II de la fig. 22), on note parfois un relâchement de l'organe mais jamais d'arrêt. Les systoles qui persistent émanent de la pointe et n'ont rien perdu de leur fréquence. La double inscription montre que l'amplitude des contractions apicales n'est pas modifiée par l'application d'acétylcholine au niveau de la base.

Ainsi l'application locale d'acétylcholine à dose suffisamment concentrée, entraîne régulièrement, lorsqu'elle porte au niveau de la pointe, l'inhibition de l'étage entier. Au niveau de la base, l'action de la drogue n'entraîne qu'un effet inotrope négatif, non accompagné d'effet chronotrope négatif.

3) *Conclusions*

Au cours de nos recherches sur l'innervation extrinsèque du cœur de l'Escargot, nous avons pu mettre en évidence que le nerf viscéral, qui est cardio-inhibiteur en été, à l'égal du pneumogastrique chez les Vertébrés, envoyait des fibres au ventricule et à l'oreillette.

L'action inhibitrice du nerf viscéral n'est pas simple; elle est la résultante de la mise en jeu de deux types de fibres fonctionnellement distinctes : des fibres chronotropes négatives d'une part, et des fibres tonotropes négatives d'autre part.

Les fibres chronotropes négatives qui passent par les nerfs auriculaire et ventriculaire, se rendent respectivement à l'oreillette et au ventricule.

Par contre les fibres tonotropes négatives qui passent par le nerf auriculaire, se rendent d'une part, dans le myocarde auriculaire, d'autre part dans le myocarde ventriculaire en franchissant le sillon auriculo-ventriculaire.

L'oreillette ne reçoit aucune innervation par la voie du nerf ventriculaire.

Le mode de répartition des fibres viscérales dans le cœur, et dans le ventricule en particulier, montre que la pointe est contrôlée par les fibres chronotropes négatives, tandis que la base reçoit uniquement des fibres tonotropes négatives (fig. 21).

Cette distribution des fibres inhibitrices dans le ventricule s'accorde fort bien avec les propriétés fonctionnelles que nous avons reconnues aux deux moitiés transversales de cet étage. La pointe représente le centre d'initiation des contractions rythmiques du ventricule entier, tandis que la base est le siège des manifestations toniques de cet étage.

L'analyse pharmacodynamique des contractions confirme cette façon de voir.

La structure des fibres tonotropes négatives est différente de celle des fibres chronotropes négatives. Tandis que les premières passent d'une seule traite des centres supérieurs au cœur, les secondes présentent sur leur trajet un relais ganglionnaire qui les subdivise en fibres pré-ganglionnaires et fibres post-ganglionnaires.

Pendant l'hiver, les fibres pré-ganglionnaires deviennent incapables de transmettre aux fibres post-ganglionnaires les influx qu'elles reçoivent. Cette inaptitude semble être le fait d'une inhibition centrale qui émanerait d'un centre cardio-régulateur.

Ce dernier agit également sur le système tonotrope de l'organe. En effet, le cœur reçoit, en plus de son innervation viscérale, une innervation de type sympathique représentée par le nerf palléal gauche qui semble ne renfermer que des fibres tonotropes positives. Les fibres tonotropes négatives du nerf viscéral, et tonotropes positives du nerf palléal gauche agissent de façon tonique sur l'organe. En été, les fibres tonotropes positives sont dominantes, tandis qu'en hiver, ce sont les fibres tonotropes négatives qui l'emportent.

Le balancement entre ces deux systèmes semble dépendre de la teneur de l'hémolymphe en ion calcium. En hiver, l'appauvrissement de l'animal en calcium, par suite de la formation de l'épiphragme, entraîne la prépondérance des fibres chronotropes négatives.

D. — *RECHERCHES SUR L'EVENTUALITE D'UNE MEDIATION CHOLINERGIQUE DES INFLUX CARDIO-INHIBITEURS CHEZ L'ESCARGOT*

I. — HISTORIQUE

a) L'acétylcholine et son apparition dans la physiologie

La choline fut isolée pour la première fois en 1852 par Von Babo et Hirschbrunn, préparée par Strecker qui la baptisa de son nom actuel, en raison de son origine biliaire. Elle fut synthétisée en 1867 par Wierz.

C'est une base très répandue dans la nature, à l'état libre ou combiné. Soluble dans l'eau et dans l'alcool, elle est insoluble dans l'éther et dans le chloroforme.

Elle se comporte comme un alcaloïde et donne avec les réactifs généraux de ces derniers des sels bien cristallisés.

Elle donne également avec le chlorure de platine, le chlorure d'or, le sel de Reinecke des précipités qui peuvent servir à son dosage quantitatif.

Dès le début, les propriétés pharmacodynamiques hypotensives de la choline furent remarquées.

Cependant son ester acétique, l'acétylcholine, fut reconnu comme étant encore plus actif sur la pression sanguine que la base qui lui avait donné naissance [Hunt, R. et Taveau, R. de (**111**)]. Chimiquement, l'acétylcholine avait été réalisée pour la première fois par Bayer en 1866; Nothnagel en 1892 en répète la synthèse. Le produit était isolé et recueilli sous forme de chloroplatinate et de chloroaurate.

Tandis que la recherche de la choline libre chez les Invertébrés était faite d'un point de vue purement spéculatif par Gautrelet, J. (**86**, **87**), l'étude pharmacodynamique de l'acétylcholine se poursuivait également. Dale, H.H. (**55**), en 1914, pour expliquer la labilité de la drogue introduite dans l'organisme, suppose qu'elle est rapidement hydrolysée en ses constituants beaucoup moins actifs, grâce à l'intervention d'un ferment spécial.

Tel était sensiblement l'état des recherches sur la choline et ses dérivés en 1921, lorsque Loewi, O. (**164**), à l'ancienne théorie de la transmission directe de l'influx nerveux cardio-inhibiteur, substituait une nouvelle hypothèse aux termes de laquelle, le même influx se transmettrait du nerf à l'organe effecteur au moyen d'un intermédiaire chimique.

Cette théorie, en elle-même, ne présente pas un caractère bien nouveau. Dès la découverte de l'action propre des ions sur le cœur, l'analogie existant entre l'action du potassium et l'action vagale suggéra l'idée d'une éventuelle identité entre ces deux effets, l'action vagale se faisant par l'intermédiaire d'une libération de potassium.

Cette idée fut défendue d'abord par BOTTAZZI, F. (**27**) et reprise par HOWELL, W.H. et ses collaborateurs (**108**, **109**, **110**) à la suite de leurs recherches sur l'influence des ions sur l'excitabilité vagale. En particulier HOWELL, W.H. et DUKE, W.W. (**110**) montrèrent que le liquide de perfusion d'un cœur de Chien augmentait d'environ 20 % sa teneur en potassium au cours de l'action vagale. BOUCKAERT, J. (**28**), dans le même ordre d'idées, montra qu'un cœur arrêté par une solution sans potassium pouvait reprendre ses contractions après une période d'excitation vagale, en raison de la libération du potassium intracellulaire vers le milieu extérieur. Cette libération d'ions dans le liquide de perfusion, au cours de la stimulation des nerfs extrinsèques du cœur est admise par ASHER, L. (**9**, **10**) et ses collaborateurs [SCHEINFINKEL, N. (**238**), YASUTAKE, T. (**271**)], mais ces auteurs se refusent à suivre ZONDEK, S. G. (**272**) dans ses conclusions, à savoir que l'inhibition cardiaque résulterait de l'action du potassium qui serait libéré par le pneumogastrique et que l'accélération du cœur proviendrait de l'action du calcium préalablement libéré par le sympathique.

Pour ASHER, L., les ions qui apparaissent dans le milieu de perfusion proviennent des cellules myocardiques, et le fait que l'excitation nerveuse entraîne la diffusion d'ions K^+ ou Ca^{++} suivant la nature des fibres excitées, prouve tout simplement que les mécanismes des nerfs inhibiteurs et des nerfs accélérateurs ne sont pas identiques et que leur point d'action sur le myocarde est également différent.

A côté de ces arguments favorables à une libération ionique, il en existe d'autres qui lui sont contraires, comme c'est le cas de ceux invoqués par PACHON, V. et BUSQUET, H. (**39**, **40**), HEMMETER, J. C. (**103**) qui n'arrivent pas à retrouver les résultats précédents. En particulier PACHON, V. et BUSQUET, H. attribuent au calcium le rôle principal dans l'efficacité du vague sur le cœur; ainsi, la physiologie du nerf vague serait comparable à la physiologie de n'importe quel nerf, qui ne peut transmettre son influx à l'organe effecteur qu'en présence de calcium. C'est dans ce sens qu'il faut comprendre l'expérience de WYBAUX (**270**) qui montre que la perfusion d'un cœur par une solution pure de chlorure de sodium lève rapidement l'efficacité du nerf vague sur l'organe; l'addition de Ca^{++} à la solution provoque la réapparition de l'effet vagal lors de l'excitation nerveuse [ASHER, L. (**9**)]. A côté du calcium qui favorise l'action vagale, le potassium intervient également dans l'efficacité du nerf cardio-inhibiteur. Un taux de potassium supérieur à 0,1 % lève l'action vagale [BURRIDGE, W. (**38**)], tandis que l'absence de potassium augmente d'abord l'excitabilité du vague [ZWAARDEMAKER et LELY (**276**)] avant de la faire disparaître.

Aussi BURRIDGE pense-t-il que le calcium joue un rôle dans la transmission des influx entre fibres pré- et post-ganglionnaires du vague, tandis que le potassium serait utile au point de jonction des fibres nerveuses et de la musculature.

Il ne semble pas que la question de la diffusion des ions entre myocarde et milieu de perfusion ait fait l'objet de recherches particulières à la suite de l'énoncé de la théorie de LOEWI.

La théorie cholinergique de LOEWI, O. (**164**), dès sa parution, a soulevé

bien des objections et donné lieu à de nombreuses vérifications. Si de nos jours la discussion est apaisée et si l'unanimité semble faite sur sa validité, au point qu'il pourrait sembler hors de propos de vouloir la remettre en question, il n'en reste pas moins que ses bases expérimentales sont extrêmement fragiles sinon inexistantes. Il n'est que de reprendre les échanges de notes qui eurent lieu entre LOEWI, O. (**169**) et ASHER, L. (**11**) au sujet de l'éventualité d'une médiation chimique pour se rendre compte des objections auxquelles les expériences de LOEWI peuvent prêter flanc.

Les vérifications de cette théorie ont été effectuées soit chez la Grenouille, soit chez les Mammifères, avec des résultats variables. L'exégèse de ces recherches se trouve exposée dans les thèses d'ANTOINE, M. (**6**) et de MALMEJAC, J. (**178**).

Signalons toutefois, que les arguments, favorables ou non, notés par les différents auteurs, ne nous semblent, dans la plupart des cas, nullement concluants, étant donné que chacun d'eux opérait le plus souvent dans des conditions tout à fait particulières. Nous reviendrons ultérieurement sur ce point.

On connaît les conditions expérimentales adoptées par LOEWI, O. pour démontrer le transport humoral de l'inhibition cardiaque.

Une canule est introduite, par une des crosses aortiques, dans la cavité ventriculaire d'un cœur de Grenouille qu'on isole avec son innervation vagale, et on verse, après lavages répétés du cœur, dans le réservoir de la canule, 1 cm^3 de liquide physiologique qu'on laisse en contact avec la face interne du ventricule pendant un temps donné. Ce liquide est recueilli et servira de témoin. Un deuxième échantillon liquide le remplace dans la canule et, pendant un temps égal au premier temps de perfusion, on stimule celui des pneumogastriques qui s'est montré préalablement le plus excitable.

Ce « liquide vagal » étant recueilli, on laisse revenir le cœur à ses conditions initiales de rythme et d'amplitude en présence de liquide physiologique normal. Après quoi, on reporte successivement dans la canule, d'abord le liquide témoin, puis le liquide vagal.

Le premier liquide est sans effets notables sur le cœur; par contre le liquide vagal produit un effet inotrope négatif. Dans sa première communication LOEWI, O. (**164**) rapporte qu'il a obtenu une fois une action chronotrope négative au moyen d'un tel liquide, mais il ajoute « qu'il ne s'attendait guère à trouver ce résultat étant donné que dans son montage expérimental, le sinus arrivait à peine en contact avec le liquide de perfusion ». Le graphique qu'il rapporte est d'ailleurs éminemment critiquable car s'il montre bien l'apparition d'un effet chronotrope négatif lors de l'introduction du liquide vagal, il montre également que cet effet apparaît spontanément lors d'un renouvellement de liquide normal.

Dans sa deuxième communication sur la question du transport humoral de l'inhibition vagale, LOEWI, O. (**165**) signale que l'activité du liquide vagal est plus grande sur un *cœur rendu hypodynamique par des lavages répétés*, que sur un cœur normal. Il note également que l'effet inhibiteur (marqué dans ses expériences par un effet inotrope négatif) est transitoire et suivi par un effet inotrope positif qu'il assimile à un effet de type sympathique. Les contractions dans ces conditions arrivent à dépasser en amplitude les contractions d'un cœur atropinisé,

De plus, LOEWI, O. affirme que la substance vagale ne se forme qu'au cours de l'excitation du pneumogastrique. Un cœur normal, au cours de son fonctionnement automatique, ne libère pas cette substance, pas plus d'ailleurs qu'un cœur inactif (arrêté par une ligature de Stannius).

Lorsque le liquide vagal reste dans la canule, l'amplitude des contractions n'est accrue que d'une façon passagère. On observe un retour progressif aux contractions normales. LOEWI, O. explique ce phénomène, d'une part par la fatigue du cœur, d'autre part par la destruction de la substance vagale, car si on introduit dans la canule du cœur témoin, un perfusat ayant déjà séjourné un certain temps dans la canule d'un autre cœur, on constate qu'il n'y a plus d'effet inotrope.

Dans sa tentative de détermination de la nature de la substance vagale, LOEWI, O. prenant en considération d'une part le fait que l'action du liquide vagal est supprimée rapidement par application d'atropine et que, d'autre part, seule la choline ou ses dérivés, parmi les produits connus alors, présentent des propriétés analogues vis-à-vis de cet alcaloïde, en conclut que la substance vagale est un dérivé de la choline.

Dans sa troisième communication LOEWI, O. (**166**) précise les conditions d'obtention d'un liquide vagal efficace. La quantité de liquide qui perfuse le cœur doit être minime; le cœur au cours de l'excitation vagale doit présenter un effet inotrope négatif; enfin, il convient d'éviter la formation de substances cardio-accélératrices en n'utilisant que des intensités modérées, efficaces pour les fibres cardio-inhibitrices, mais sous-liminaires pour les fibres accélératrices.

Il convient de faire remarquer ici que LOEWI, O. fait une distinction entre effet inotrope et effet chronotrope négatifs, effets qui, comme nous l'avons vu, ne constituent que deux aspects variés d'un seul et même effet chronotrope. C'est d'ailleurs l'objection que lui fit ASHER, L. pour montrer combien cette précaution était vaine.

La quatrième communication de LOEWI, O. porte sur les modalités d'apparition de la substance vagale dans le perfusat; celle-ci est libérée au maximum dans les 4 à 6 premières minutes de l'excitation, puis se résorbe au-delà.

La recherche du transport humoral des effets chronotropes négatifs fait l'objet de la cinquième note (**168**). La technique opératoire de LOEWI, O. est un peu modifiée. Il n'attend plus le retour des contractions à leur amplitude initiale pour appliquer ses perfusats. Le liquide témoin, obtenu en perfusant le cœur pendant 20 minutes, en dehors de toute excitation, a déjà un effet inotrope positif ce qui pour l'auteur, s'explique par l'effet reconstituant des lipoïdes accumulés dans le liquide témoin.

Le liquide vagal provoque l'arrêt total, ou presque, des oreillettes, et un effet inotrope négatif au niveau du ventricule.

Pour que le liquide vagal soit efficace, il faut que l'excitation du nerf remplisse certaines conditions. Elle doit avoir une action chronotrope négative sur le rythme

cardiaque (arrêt des oreillettes et du ventricule, l'arrêt sinusal étant très rare). Les nerfs accélérateurs du cœur ne doivent pas agir en même temps que les nerfs cardio-inhibiteurs : les seuils d'excitabilité différents des deux types de fibres constituant le pneumogastrique permettent d'exciter électivement les fibres modératrices. Pour plus de sûreté, LOEWI, O. utilise du Ringer ergotaminé, ce qui permet à l'auteur, en paralysant le système sympathique, d'augmenter la production de substance vagale par des stimulations fortes et de longue durée.

Le sixième mémoire, en collaboration avec NAVRATIL, E. (**172**) traite du lieu et du mode d'action de l'atropine. LOEWI, O. montre que l'atropine ne supprime pas la libération de la substance vagale, mais l'empêche d'être efficace au niveau du cœur en expérience.

Le septième mémoire, par LOEWI, O. et NAVRATIL, E. (**173**) est consacré aux analogies existant entre liquide vagal et action nerveuse. Il est signalé dans ce travail que la substance vagale se produit rapidement, tandis que la substance élaborée par les nerfs accélérateurs, bien que rapidement formée, elle aussi, demande pour agir un temps de latence supérieur à celui nécessaire à la substance vagale pour agir sur un cœur témoin. Réciproquement, lorsque le liquide de perfusion chargé des substances actives est retiré du cœur témoin, c'est l'effet vagal qui disparaît en premier lieu, tandis que l'effet sympathique persiste encore pendant un certain temps.

WITANOWSKI, W.R. (**268**), auteur du huitième mémoire, s'est attaché à déterminer la nature de la substance vagale.

Il rapporte qu'elle dialyse au travers des membranes de collodion. L'ébullition, même répétée ne la détruit pas. La réaction alcaline du milieu la détruit, tandis que un pH acide entretient sa conservation, et lui permet de subir la dessication sous vide à 40° C.

Sur le résidu sec, le lavage à l'alcool entraîne la substance active qui peut être reprise par du Ringer après évaporation préalable de l'alcool.

L'éther ne constitue pas un solvant pour le *Vagusstoff* et arrive même à le précipiter de ses solutions alcooliques.

Ces propriétés sont également celles des perfusats de cœur non soumis à l'action vagale. Aussi WITANOWSKI, W.R. pense-t-il que la diffusion de substance vagale dans le liquide de perfusion constitue un phénomène constant; seule la quantité de substance libérée varie suivant que le vague est excité ou non.

Les extraits alcooliques de cœurs broyés se révèlent trois à six fois moins actifs que les extraits de liquides vagaux.

La même technique d'extraction appliquée aux nerfs permet de mettre en évidence la présence, dans ces éléments tissulaires, de substances à effet vagal, que l'atropine modifie en effet accélérateur.

L'acétylation du liquide vagal, ou des simples perfusats ayant séjourné dans des cœurs en fonctionnement normal, menée de pair avec l'acétylation de solutions de choline pure, de même activité biologique que les liquides considérés, donne des produits infiniment plus actifs dans le second cas que dans le premier, ce

qui pour l'auteur suffit à éliminer la choline comme constituant éventuel de la substance vagale, tout au moins en grande partie; d'ailleurs l'instabilité des dérivés de la choline est incompatible avec la stabilité de la substance étudiée.

Le dixième mémoire publié par LOEWI, O. et NAVRATIL, E. (**174**) a pour objet la détermination de la destinée de la substance vagale dans l'organisme. Cette substance disparaît lorsqu'elle est au contact du cœur (voir 7e mémoire) mais l'agent de la destruction rapide de la substance ne se trouve pas dans le liquide vagal même, car ce dernier conserve son activité pendant 24 heures au moins. C'est dans le cœur même que se trouve le facteur destructeur; les extraits cardiaques inactivent la substance vagale. Le chauffage à 56° C de ces extraits détruit cet agent.

En dépit du mémoire de WITANOWSKI, W.R. qui élimine la choline et ses dérivés des substances possibles, LOEWI, O. et NAVRATIL, E., comparent cette destruction de la substance vagale à celle de l'acétylcholine placée dans les mêmes conditions. Aussi considèrent-ils comme très vraisemblable l'idée suivant laquelle la substance vagale serait un ester cholinique. Il se pourrait même, étant donné le degré extraordinaire d'efficacité du liquide vagal, qu'il contînt de l'acétylcholine. Contrairement aux résultats obtenus par WITANOWSKI, W.R. par acétylation, après hydrolyse préalable de la substance vagale et de l'acétylcholine, ces deux auteurs retrouvent des résultats identiques.

Enfin dans le onzième mémoire, LOEWI, O. et NAVRATIL, E. (**175**) étudient l'influence de l'ergotamine et de la physostigmine sur l'action vagale. L'action de ces deux drogues étant semblable vis-à-vis du *Vagusstoff* et de l'acétylcholine, ces auteurs concluent à l'identité de ces deux dernières substances, la physostigmine et l'ergotamine inhibant les processus fermentaires qui président à leur destruction rapide à l'intérieur du cœur.

Ces expériences, sur le cœur de Grenouille, ont été répétées avec des résultats variables. Chez d'autres Vertébrés, l'éventualité d'une médiation chimique au niveau du cœur a également fait l'objet de nombreuses recherches. Statistiquement, il semble y avoir autant de résultats favorables à l'hypothèse de LOEWI, O., que de résultats négatifs. Cependant, il n'est guère possible de tirer argument de l'un ou l'autre car, dans la plupart des cas, les techniques opératoires adoptées par les auteurs n'ont pas de points communs, soit en ce qui concerne la composition du liquide de perfusion de l'organe (liquide physiologique, sang défibriné ou plasma), soit en ce qui concerne l'organe témoin (le cœur donneur ou un second cœur sert de témoin; l'estomac, la pression sanguine sont également choisis comme tests). La saison qui joue apparemment un grand rôle dans la production, par le cœur, de substance vagale, n'entre pas toujours en ligne de compte dans les différentes expériences.

Dans toutes les recherches menées chez la Grenouille, le cœur donneur sert de cœur témoin.

TEN CATE, J. (**244**) enregistre, sur 22 expériences, 7 résultats favorables à la théorie des médiateurs chimiques.

ATZLER, E. et MULLER, E. (**12**), répétant les expériences de LOEWI, O. sur des Grenouilles en été, n'observent que rarement l'effet vagal typique. Par contre, l'effet accélérateur est constant et se répète avec des perfusats ayant séjourné dans la glacière.

POPPER, M. et RUSSO, G. (**214**) confirment les expériences de LOEWI, O., sur des cœurs rendus « hypodynames » par lavages répétés.

PLATTNER, F. (**208**) sur des Crapauds capturés en mars et mis en expérience en juin, retrouve les résultats décrits par LOEWI, O., lorsqu'il utilise du Ringer.

KAHN, R.H. (**155**) perfusant des cœurs montés sur une même canule à deux embouts, note des résultats conformes aux vues de LOEWI, O.

Chez les Mammifères, le cœur témoin est différent du cœur donneur. BRINKMANN, R. et VAN DE VELDE, J. (**31**) obtiennent des effets conformes aux vues de LOEWI, O. en réinjectant, dans un cœur témoin, le sang prélevé par ponction dans l'oreillette droite du cœur donneur.

PLATTNER, F. (**209**) conteste la validité des résultats obtenus par ces auteurs en raison des perturbations hydrodynamiques introduites par cette technique. Bien que lui-même, au cours de ses expériences, n'ait pu retrouver un argument quelconque favorable à la théorie de LOEWI, O., il n'en persiste pas moins à croire à l'existence de la substance vagale, qu'il n'a pu déceler, pense-t-il, en raison de l'activité hydrolytique du sang.

RIJLANT, P. (**224**) partisan convaincu de la théorie de LOEWI, O., à la suite de ses travaux favorables à l'hypothèse d'une médiation chimique des influx cardio-inhibiteurs chez le Chat, entreprend de vérifier ce dernier point, à savoir l'influence de la nature du liquide de perfusion sur la libération de substance vagale. Opérant sur des cœurs perfusés par du sang défibriné, il constate que l'effet vagal du perfusat est beaucoup moins net dans ce cas que lors de la perfusion par le liquide de Locke.

Ce dernier fait confirme les résultats de PLATTNER, F. (**208**) qui, chez la Grenouille, retrouve les résultats de LOEWI, O. lorsqu'il perfuse le cœur par du Ringer, mais n'observe aucune modification de l'activité de l'organe témoin lorsqu'il utilise, comme milieu de perfusion du sang de Grenouille défibriné ou du sang de Mammifère.

C'est également l'avis de MALMEJAC, J. (**178**) qui a observé dans ses expériences sur les cœurs de Grenouille, de Tortue, de Chien et de Chat que la substance vagale ne passe normalement pas du cœur au sang. Par contre, les liquides de perfusion se chargent de substance active lorsqu'ils réalisent des conditions imparfaites, extraphysiologiques, de circulation. Cet auteur rapporte d'ailleurs que c'est là également l'opinion de LOEWI, O. qui admet que « le liquide de Ringer perméabilise le cœur de Grenouille et permet la libération de la substance vagale ».

Enfin, POPPER, M. et RUSSO, G. (**214**), OLIVEIRA FRIAS, C. DE (**203**), GRANIT, R. et BONSDORF, B. VON (**92**) signalent la non spécificité de cette substance vagale.

OLIVEIRA FRIAS, C. DE (**202**) observe que seul le début de l'excitation libère la substance active.

Telle est, très schématiquement, la position de la question de la médiation des influx cardio-inhibiteurs chez les Vertébrés. Nous avons tenu à faire ce rappel des données expérimentales dans l'intention, au cours de l'exposé de nos propres recherches sur l'éventualité d'une médiation chimique chez l'Escargot, de souligner les analogies profondes existant entre nos résultats et ceux des auteurs précédents.

Pour apporter une conclusion à ce bref historique, on peut admettre que l'excitation vagale libère dans le liquide de perfusion du cœur une substance douée de certaines propriétés biologiques. Est-ce le médiateur normal des influx cardio-inhibiteurs ou simplement le produit du métabolisme cardiaque pendant l'inhibition?

Le fait que cette substance ne passe pas dans les conditions normales dans le sang, mais diffuse régulièrement dans les liquides physiologiques synthétiques, ferait plutôt penser à la seconde hypothèse. Les arguments invoqués en faveur de l'identification de l'action de la substance libérée avec les effets de l'action vagale sont fragiles : ils ne reposent que sur le parallélisme d'action de certaines drogues sur le *Vagusstoff* et sur l'inhibition vagale; c'est ainsi que l'atropine lève l'action de l'un et l'autre, l'ésérine renforce leurs effets respectifs. Or, à notre connaissance, l'activité de ces deux drogues n'est connue qu'en fonction de l'excitation vagale et des effets de l'acétylcholine.

Il semble que l'action de ces agents pharmacodynamiques soit sensiblement plus compliquée et ne se limite pas au seul domaine parasympathique. C'est ainsi que nous avons pu observer que, chez l'Escargot au moins, l'atropine inhibait l'action du calcium par exemple. D'autre part, l'ésérine bloque les phénomènes respiratoires des cellules.

L'opinion actuelle, devant les échecs répétés de toutes les tentatives chimiques d'identification de l'acétylcholine dans les liquides vagaux, prétend qu'il n'est pas du tout nécessaire que le « médiateur » apparaisse dans le liquide de perfusion, les cholinestérases tissulaires le détruisant en une fraction de seconde, avant qu'il ait eu le temps de passer dans la solution. C'est faire table rase des expériences fondamentales de Loewi, O. qui, rappelons-le, ne découvrit les propriétés anticholinestérasiques de l'ésérine et leur utilité qu'en 1926, bien longtemps après avoir établi la transmission humorale, en dehors de tout artifice pharmacodynamique.

Que dire des recherches histologiques actuelles qui tirent argument de la présence de « cholinestérases » au niveau des tissus pour conclure à la nature cholinergique de l'innervation propre à ces tissus.

Si l'acétylcholine fut indispensable à l'élaboration de la théorie cholinergique, il est remarquable de constater que celle-ci s'est rapidement détachée de son substrat pour passer dans le domaine des idées pures.

L'hypothèse d'une médiation cholinergique n'a pas été limitée au seul cas du cœur. Nombre de travaux tendent à établir la validité de celle-ci au niveau des synapses interneuronales, neuro-musculaires, neuro-glandulaires, neuro-vasculaires. On pourrait presque dire, depuis les travaux de Loewi, O., que l'acétylcholine est devenue le « *fac totum* » de la physiologie.

Ces différents aspects de la question cholinergique sont exposés, discutés et défendus par MINZ, B. (**191**).

Il est certain que, parmi toutes les recherches relatives à la transmission neuro-musculaire au niveau du muscle ou au niveau du cœur, certaines peuvent s'inscrire dans le cadre de l'hypothèse d'une médiation chimique; d'autres, au contraire, effectuées sur le même matériel vivant, sembleraient constituer à elles seules des arguments sérieux pour reviser les notions précédentes, si une nouvelle hypothèse corollaire, le plus souvent sans base ou échappant à toute vérification, ne venait tourner la difficulté. De sorte, qu'actuellement, la question du rôle de « l'acétylcholine » dans l'organisme est devenue extrêmement complexe. Aussi est-il douteux que les faits expérimentaux, de valeur incontestable, mais interprétés au seul profit de la théorie cholinergique, puissent jamais, dans ces conditions, trouver leur véritable explication. Les travaux de LOEWI, O. furent à l'origine de l'hypothèse cholinergique, mais c'est méconnaître la valeur de l'hypothèse que de vouloir la maintenir à tout prix.

Pour préciser dès maintenant notre position dans cette discussion, nous indiquerons que nous reconnaissons le passage dans le liquide de perfusion d'une substance d'origine organique. Son action sur le cœur témoin est des plus variables. MALMEJAC, J. rapporte que « nombre de physiologistes ont cité des expériences où l'effet engendré par le transport du contenu ventriculaire se révélait, chez la Grenouille, le contraire de celui qu'avait déterminé l'excitation préalable du nerf » et il fait état de quelques exemples de cette action paradoxalement inversée.

Comment parler, dans ces conditions, de médiateur, puisque théoriquement l'action de celui-ci devrait rester homogène, quel que fût l'état physiologique de l'organe effecteur.

Si le fait essentiel reste indiscutable, à savoir le passage dans le liquide de perfusion, d'une substance dite « vagale », au cours de la faradisation du nerf cardio-inhibiteur, l'interprétation proposée par LOEWI, O. ne s'accorde pas du tout avec les faits expérimentaux, et les quelques cas où les faits concordent avec la théorie rentrent par ailleurs fort bien dans le cadre d'une explication que nous proposerons à la suite de nos recherches sur le cœur d'Escargot (que nous avons vérifiées d'ailleurs sur les cœurs de Grenouille et de Poisson).

b) L'ACÉTYLCHOLINE CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Comme nous le signalions plus haut, à partir des expériences de LOEWI, O. la recherche de l'acétylcholine ou de la choline dans les différents tissus animaux prit une orientation nouvelle, en vue d'établir s'il était possible de retrouver, dans d'autres groupes animaux inférieurs, des dispositifs analogues à ceux observés chez les Vertébrés.

Il faut attendre la mise au point de techniques biologiques simples et pratiques de dosage de l'acétylcholine pour assister à l'éclosion des premières recherches systématiques de cette substance dans les divers groupes d'Invertébrés.

BACQ, Z.M. (**13**, **14**) en 1935 ouvre la voie dans ce domaine. Pour cet auteur, l'extension aux Invertébrés de la théorie cholinergique ne peut être envisagée qu'en fonction de trois conditions préalables.

1° L'acétylcholine doit exister à l'état combiné dans les différents tissus de l'animal considéré. C'est à partir de ce complexe que l'excitation nerveuse libère la forme active du produit. Cependant, il est possible d'extraire l'acétylcholine active de sa forme dissimulée en utilisant des moyens chimiques tels que l'extraction trichloracétique ou en milieu alcoolique acide.

2° Au niveau de l'organe, pour que chaque libération d'acétylcholine soit efficace, il ne faut pas que les éléments récepteurs présentent d'accoutumance vis-à-vis du médiateur. Aussi, la présence, dans l'organisme de l'animal considéré, d'une diastase hydrolysant rapidement l'acétylcholine, est-elle une nécessité, autant pour assurer une réceptivité et une sensibilité constantes de l'organe effecteur, que pour éviter la diffusion de la drogue élaborée au cours de l'excitation, permettant ainsi une localisation très étroite de l'action nerveuse.

3° Enfin, il importe que le tissu récepteur (muscle, glande ou cellule nerveuse) soit sensible à l'acétylcholine.

Résumant ses observations, BACQ, Z.M., note que l'on trouve de l'acétylcholine dans les muscles, glandes, cellules nerveuses des Mollusques, des Sipunculiens, des Vers et des Echinodermes.

Par contre, les Coelentérés et les Eponges en sont dépourvus. Quant aux Crustacés, ils semblent ne posséder d'acétylcholine que dans le système nerveux central.

L'hémolymphe et les tissus des Mollusques, Vers, Sipunculiens et Echinodermes hydrolysent l'acétylcholine. Leur activité hydrolytique est inhibée par l'ésérine. Chez les Crustacés et les Insectes, on ne trouve pas de cholinestérases dans l'hémolymphe, mais les tissus sont doués d'une propriété hydrolytique variable.

Chez les Coelentérés et les Spongiaires, il n'est pas possible de mettre en évidence des cholinestérases.

Aussi BACQ, Z.M. conclut-il que rien ne s'oppose à l'extension de la théorie des médiateurs du type acétylcholine, aux Mollusques, Vers, Sipunculiens et Echinodermes.

Cependant, les Mollusques ne présentent pas la même sensibilité que les Vers à l'acétylcholine. De plus, si l'ésérine renforce l'action nerveuse chez les Vers [BACQ, Z.M. et COPPEE, G. (**17**)] et chez les Echinodermes [BACQ, Z. M. (**16**)], elle reste sans effets sur la transmission neuro-musculaire chez les Mollusques Céphalopodes [KRUTA, V. (**157**)], Gastéropodes ou Lamellibranches [sauf chez *Venus mercenaria* d'après les recherches de PROSSER, C.L. (**217**, **218**)].

Pour confirmer les résultats obtenus chez les Mollusques par dosage de l'acétylcholine au moyen de la méthode du muscle droit abdominal de Grenouille ésériné, BACQ, Z.M. et MAZZA, F.P. (**18**) mettent en évidence, par voie chimique, l'existence d'acétylcholine dans les ganglions nerveux du Poulpe *Octopus*. Ils arrivent à identifier un chloroaurate qui, par ses propriétés et ses caractères physiques, semble identique au chloroaurate d'acétylcholine.

Cependant, en dépit de la réunion de tous ces éléments favorables à une transmission cholinergique des influx nerveux, toutes les expériences directes tentées en vue d'établir la réalité d'une médiation chimique ont échoué. KRUTA,

V. (**156**) à partir de considérations théoriques, doute que l'inhibition du cœur, résultant de l'excitation des nerfs viscéraux, soit le fait d'une libération d'acétylcholine au niveau du myocarde. La comparaison des temps de latence de l'action vagale et de l'action cholinique, s'oppose à l'identification de l'une à l'autre. L'absence de potentialisation de l'action vagale par l'ésérine constitue également pour cet auteur un argument suffisant pour nier la transmission cholinergique des influx cardio-inhibiteurs.

Par ailleurs, les expériences directes faites en vue de démontrer la transmissibilité de l'effet inhibiteur d'un cœur à l'autre se sont toujours soldées par un échec [Bacq, Z.M. (**15**), Kruta, V. (**156**)].

c) L'acétylcholine chez l'Escargot

Chez les Gastéropodes, la question d'une médiation cholinergique a été abordée par Jullien, A. et Morin, G. (**119**). Ces auteurs sont tout d'abord frappés par les anomalies présentées par le cœur isolé et inactif de *Murex trunculus*. L'addition d'atropine au milieu baignant cet organe provoque la réapparition des contractions spontanées. Suivant ces auteurs, si l'inhibition initiale peut trouver sa justification dans l'irritation des fibres cardio-inhibitrices au moment du prélèvement de l'organe, la reprise des contractions ne peut en tout cas pas s'expliquer par la levée d'une action cholinergique, elle-même conditionnée par la mise en jeu des fibres inhibitrices, puisque, chez cette espèce, il n'est pas possible d'observer un antagonisme atropine-acétylcholine.

Aussi, pour servir de préface à de nouvelles recherches sur la question de la médiation chimique chez les Gastéropodes, Vincent, D. et Jullien, A. (**254**) entreprennent-ils le dosage systématique de l'acétylcholine intracardiaque chez les Mollusques, en utilisant, comme moyen de dosage, le muscle dorsal de Sangsue ésériné. Les solutions appliquées au test sont constituées, soit en broyant simplement le cœur dans un volume donné de Ringer ésériné au 1/200.000, soit en diluant dans cette même solution les extraits trichloracétiques neutralisés [technique de Chang, H.C. et Gaddum, J.H. (**50**)]. Parmi les valeurs trouvées pour les différents Mollusques étudiés, nous ne retiendrons que celles relatives à l'Escargot (*Helix pomatia*) : 2,5 - 2,5 - 5 µg/g de cœur par la technique des broyats et 2,8 - 3,0 - 3,2 µg/g d'organe par la technique des extraits trichloracétiques.

Pour ces auteurs, il s'agit bien d'un ester de la choline car les effets de ces préparations sont renforcés par l'ésérine, et disparaissent après contact de l'extrait avec du sérum riche en cholinestérases.

A cette teneur relativement forte en acétylcholine, ces mêmes auteurs (**255**, **256**) font correspondre une forte activité cholinestérasique.

Enfin, ayant constaté que des cœurs conservés en glacière même en présence de liquide physiologique ésériné, s'appauvrissaient en acétylcholine, Jullien, A., Vincent, D., Bouchet, M. et Vuillet, M. (**144**, **145**) pensèrent que la substance diffusait dans le milieu extérieur. C'est ce que leurs expériences confirmèrent : les cœurs, quel que soit leur milieu, pour toutes les espèces étudiées,

laissent diffuser, dans le milieu de perfusion, une substance active sur le muscle de Sangsue. Dans tous les cas, la courbe de diffusion a un aspect identique à elle-même, pour des cœurs isolés, en état d'activité variable et non tendus. Le maximum de la diffusion est obtenu au bout de la sixième ou septième heure, et la quantité d'acétylcholine diffusée atteint des valeurs comprises entre le 1/6 et le 1/3 du stock initial intracardiaque.

La substance active sur le muscle de Sangsue est bien l'acétylcholine. L'application des extraits de cœur ou des diffusats sur un autre test que le muscle de Sangsue, en l'occurence, sur le cœur de Grenouille hongroise monté sur une canule de Straub, provoque soit des effets inotropes et chronotropes négatifs, soit un arrêt immédiat en diastole. L'atropine abolit ces effets de type vagal (**146**).

Le cœur d'Escargot est également un test très sensible à l'acétylcholine, surtout lorsque la solution est amenée au contact de la face interne de l'organe [Binet, L. et Perles, L. (**22**)] au point que Halpern, N. et Corteggiani, E. (**97**) ont voulu s'en servir comme moyen de dosage de l'acétylcholine.

L'acétylcholine commence à agir à la concentration de 10^{-7} en milieu normal, et à 10^{-8} en milieu ésériné; l'effet enregistré est inotrope et chronotrope négatif. Pour des concentrations croissantes, l'arrêt de l'organe se produit à des niveaux se rapprochant de plus en plus du tonus systolique normal pour le dépasser finalement.

Sur un tel organe, monté sur canule de Straub (**148**), l'application de broyats de cœurs en milieu ésériné ou de diffusats provoque immédiatement des effets inotropes et chronotropes négatifs.

Lorsqu'on s'adresse à des broyats de cœurs normaux, il se produit un arrêt en contracture du ventricule témoin. La durée de l'inhibition est variable et peut aller de 1 minute à 1 heure. La systolisation du ventricule n'est pas immédiate mais s'établit progressivement par suite d'une montée plus rapide du tonus diastolique que du tonus systolique.

A la reprise des contractions, les systoles reparaissent sur un mode inotrope et chronotrope négatif; dans tous les cas, le tonus diastolique reste plus élevé que normalement.

Les diffusats peuvent être recueillis en milieu ésériné ou non ésériné. Dans ce dernier cas, les diffusats de 35 minutes produisent déjà sur le cœur témoin des effets chronotropes et inotropes négatifs, ces derniers résultant d'une montée considérable du tonus diastolique. Des temps de diffusion plus grands intensifient l'action propre des diffusats et pour des durées de 6 heures, l'effet du diffusat est devenu comparable à celui du broyat d'organe, sans toutefois que le niveau de la systolisation atteigne le niveau obtenu précédemment.

En milieu ésériné, les diffusats provoquent toujours un effet chronotrope négatif, mais la systolisation n'apparaît plus. L'effet inotrope est négatif au début de l'application puis devient rapidement positif, et l'amplitude des contractions arrive à dépasser la normale.

Cependant, comme le note Vincent, D. (**253**) cette action n'est qu'une résultante de multiples facteurs auxquels le cœur d'*Helix* est très sensible.

Au cours de recherches ultérieures, Jullien, A. et Vincent, D. (**143**)

reprennent l'étude des modalités suivant lesquelles s'effectue la libération de l'acétylcholine intracardiaque. Au cours de ces expériences, les cœurs sont baignés par leur face externe au moyen d'une solution physiologique ésérinée au 1/200.000.

Les cœurs sont répartis en trois lots; le premier sert au dosage, par la méthode du muscle de Sangsue, du taux initial d'acétylcholine intracardiaque.

Un autre lot est constitué de cœurs fonctionnant automatiquement. Deux ligatures sont posées, l'une sur le débouché de la veine pulmonaire, l'autre au niveau de la naissance de l'aorte. Le cœur est détaché par des sections portées en dehors des ligatures. Les chefs de celles-ci sont noués de façon à former deux boucles. La boucle supérieure sert à suspendre le cœur à un support horizontal tandis que dans la boucle inférieure est passé un petit cavalier en argent qui, par sa masse, sollicite et entretient l'automatisme régulier de l'organe.

Enfin, le troisième lot est formé par des cœurs inactifs. Ceux-ci sont détachés, comme les précédents, entre deux ligatures portées aux extrémités de l'organe. En plus, d'autres ligatures intermédiaires sont posées, l'une au niveau du sillon auriculo-ventriculaire, deux autres, peu serrées, à hauteur du premier et du troisième tiers du ventricule.

Pour tous ces lots, la solution de perfusion est renouvelée de 4 en 4 heures, et l'expérience dure 48 heures. Pour finir l'acétylcholine restant dans le myocarde est dosée en broyant l'organe en milieu ésériné.

Les dosages révèlent que les cœurs actifs ou inactifs libèrent une substance active sur le muscle de Sangsue.

Cette libération semble favorisée par l'activité de l'organe (quantité libérée : 6,5 µg dans le cas de cœurs actifs, contre 3,72 µg dans le cas des cœurs inactifs).

En outre, les taux d'acétylcholine intracardiaque calculés en fin d'expérience indiquent une forte élévation par rapport au taux initial qui est presque doublé (9,1 µg et 9 µg/g de tissu, contre 5 µg/g initiaux).

Les auteurs pensent que la formation de l'acétylcholine se fait à partir d'un complexe préexistant, inactif sur le muscle de Sangsue.

Cette première observation jointe aux observations relatives à l'action du nerf cardiaque, ne semble pas favorable à l'hypothèse d'une médiation cholinergique dans le fonctionnement des nerfs cardio-inhibiteurs chez les Mollusques, car la libération du médiateur éventuel, l'acétylcholine, correspond ici, non à un hypofonctionnement de l'organe, mais bien à une phase de pleine activité.

d) Aperçus sur la production spontanée d'acétylcholine dans d'autres groupes d'animaux

En 1940, Runcan, V. (**236**) fait des observations analogues aux précédentes sur le cœur de Grenouille (*Rana esculenta*) monté sur une canule de Straub. En particulier, il observe que l'amplitude des contractions diminue tant qu'on ne change pas le liquide contenu dans la canule, ce que l'auteur explique en admettant une production d'acétylcholine par le cœur, substance qui finit par produire ses effets cardio-inhibiteurs. Par contre, l'amplitude revient à sa valeur initiale en présence de liquide de Tyrode frais.

Chez cette même espèce, en 1947, BRUCKE, F. et WERNER, G. (**37**) mettent en évidence l'influence du calcium sur la production d'acétylcholine par le cœur.

Chez le Cobaye, cette libération spontanée d'acétylcholine est mise également en évidence en 1953 par SPADOLINI, I. et GIACHETTI, A. (**240**). Selon ces auteurs, il existerait un métabolisme acétylcholinique dans le muscle cardiaque. L'acétylcholine se libère de façon continue dans le tissu myocardique et sa production se trouve en rapport direct avec le degré d'automatisme de l'organe. Dans leurs expériences, les auteurs montrent que l'action de la drogue peut être inhibitrice ou cardio-stimulante lorsqu'elle est appliquée d'emblée sur le cœur ou après traitement préalable de l'organe par de la cholinestérase. L'expérience peut être répétée chez *Bufo vulgaris*, *Emys europaeae* et *Testudo graeca*.

L'interprétation proposée est la suivante : « nous avons été conduits par l'idée... que l'acétylcholine représente pour le cœur non seulement le médiateur des influx cholinergiques du vague, mais aussi une substance élaborée continuellement dans le métabolisme du myocarde pour soutenir son activité contractile rythmique ». Cette formation est continue et réglée par des équilibres différents « ainsi la concentration atteinte par la substance active dans le tissu est habituellement suffisante pour que son effet moteur se manifeste »... « Si la formation endogène devient plus rapide et que la concentration dans le myocarde augmente, tout nous fait penser qu'on puisse voir s'établir la phase négative qui conduit au ralentissement et à l'inhibition plus ou moins complète du battement cardiaque ».

Au contraire, si la formation endogène a tendance à s'atténuer et que parallèlement, la hauteur et la fréquence des contractions diminuent, « chaque contraction tendra à rétablir ou à augmenter cette production jusqu'à faire reparaître l'effet excito-moteur ».

Toujours selon ces auteurs, l'excitation vagale aurait pour effet d'accroître la production endogène d'acétylcholine.

Par leur position, ces auteurs se rapprochent de l'opinion émise par MAC DOWALL, R.J.S. (**176**, **177**) qui signalait, en 1946, une action cardio-stimulante de l'acétylcholine chez les Chats, Lapins et Rats, ou de celle, formulée en 1942, par PROSSER, C.L. (**218**) concernant l'action chronotrope positive du produit sur le cœur des Arthropodes.

Cette action diphasique de l'acétylcholine avait déjà été observée en 1946 par PERUZZI, P. (**206**). Mais pour SPADOLINI, I. et GIACHETTI, A., l'action diphasique de la drogue pourrait s'expliquer par la concentration de la substance active d'une part, et par la présence, dans l'organe, de récepteurs excitateurs et de récepteurs inhibiteurs dont les proportions relatives détermineraient le comportement final de l'effecteur. De plus, le rapport entre les différents types d'éléments sensibles serait influencé par les hormones, les vitamines, les médicaments; les récepteurs inhibiteurs seraient les plus sensibles à toute modification de concentration de ces substances.

L'hypothèse de tels éléments demanderait une confirmation expérimentale. En tout cas, comme le constatent SPADOLINI, I. et GIACHETTI, A., « tout cela rend bien complexe la possibilité de prévoir toujours la réponse du tissu à l'acétylcholine ».

Enfin, en 1954, BRISCOE, S. et BURN, J.H. (**32**) observent à leur tour chez le Lapin la production d'un équivalent-acétylcholine (*acetylcholine like substance*) au cours du fonctionnement du cœur isolé. Cette formation exige la présence d'ésérine dans le milieu de perfusion.

La libération d'acétylcholine dans l'intimité du myocarde sous l'influence de l'excitation vagale a été étudiée chez le Lapin par GENUIT, H. (**88**). La faradisation du X libère de l'acétylcholine proportionnellement à la durée et à l'intensité de l'excitation, mais la quantité libérée dans le perfusat est relativement faible, car elle équivaut sensiblement au 1/5 de la dose d'acétylcholine standard, nécessaire pour produire une inhibition du cœur semblable à celle produite par l'excitation vagale.

Quant à l'origine de l'acétylcholine mise en évidence au cours des différents dosages biologiques, tous les auteurs admettent qu'elle est représentée par une forme complexe, biologiquement inactive (**1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 53 - 54 - 151**) de nature discutée (**5 - 7 - 150 - 170 - 171**). Les oreillettes en contiendraient deux fois plus que les ventricules (observations de ABDON, N.O. et BORGLIN, N.E. (**2**) chez le Lapin).

Seule l'acétylcholine libre serait active sur l'organe effecteur, et seule elle serait attaquable par la cholinestérase.

Le passage d'une forme à l'autre se ferait dans des conditions qui restent encore à préciser : l'ion K^+ (**34**), la vitamine B^1 (**189, 190**) joueraient peut-être un rôle.

L'excitation vagale libérerait rapidement l'acétylcholine de son complexe (**2**) mais la substance ne diffuserait pas dans le milieu de perfusion dans sa totalité. Une partie servirait à la reconstitution du stock d'acétylcholine dissimulée, par une réaction inverse qui serait favorisée par la présence de glucose (**1**). Alors que l'atropine serait sans effets sur l'équilibre acétylcholine libre - acétylcholine dissimulée, l'estérase hydrolysant l'acétylcholine libre aurait un rôle important dans le métabolisme du cœur (**1**).

Signalons enfin que PERUZZI, P. accorde aux médiateurs chimiques la qualité de régulateurs des systèmes enzymatiques de la cellule (**207**), opinion défendue également par Von MURALT, A. (**196**) qui voit dans l'acétylcholine et dans la thiamine des substances agissant sur le métabolisme du glucose.

II. — RECHERCHES PERSONNELLES

Une première série de nos recherches sur le rôle de l'acétylcholine chez les Escargots s'inscrit à la suite des expériences de JULLIEN, A. et VINCENT, D. (**143**).

Au cours de ces dernières, le ventricule (ou le cœur entier) était en contact « par sa face externe avec le milieu de perfusion ».

Nous avons voulu nous placer dans des conditions plus physiologiques pour étudier ce phénomène de « libération d'acétylcholine » et de synthèse de substance

active sur le muscle de Sangsue. Le cœur était perfusé, recevant à l'intérieur de ses cavités, la solution physiologique ésérinée.

a) Etude de la production d'équivalent-acétylcholine par le cœur isolé d'Escargot

1) *Le cœur est monté sur canule de Straub, et fonctionne isotoniquement ou isométriquement.*

L'organe est monté sur une canule de Straub dont l'olive, introduite par une boutonnière pratiquée dans la paroi de l'oreillette, a été poussée dans le ventricule. La ligature supérieure est serrée un peu au-dessus du sillon auriculo-ventriculaire, la ligature inférieure à la naissance de l'aorte. On fait arriver dans la canule du liquide de Ringer ésériné sous une hauteur de 2 cm.

Dans ces conditions, le cœur se contracte parfaitement et il est susceptible de conserver son activité automatique pendant une durée de 2 à 3 jours. De temps en temps, la solution de perfusion est remplacée par du liquide neuf. Comme il arrive parfois que celui-ci filtre lentement au travers de la paroi du myocarde, le retour au niveau initial est assuré par l'addition, dans la canule, de quelques gouttes de solution fraîche.

Tous les liquides de perfusion sont recueillis pour servir au dosage de l'acétylcholine (ou de la substance équivalente) qui a pu être éliminée au cours du fonctionnement de l'organe.

Chaque expérience comprend une série de 3 ou 4 cœurs et, de façon à obtenir des résultats échelonnés dans le temps, les expériences sont arrêtées 4, 8, 24, 48 ou 72 heures après le montage.

En fin d'expérience, « l'acétylcholine » existant dans le myocarde est dosée à son tour, par broyage de l'organe en Ringer ésériné.

α) *Influence de la composition du milieu de perfusion sur l'élaboration de la substance à effet-Sangsue.*

Dans certains cas, le cœur travaillait, non contre du Ringer ésériné simple, mais soit contre du Ringer ésériné glucosé, soit contre du Ringer ésériné glucosé contenant en plus 10 unités d'insuline pour 100 cm^3. Dans d'autres cas nous avons utilisé, comme produit anticholinestérasique, la prostigmine. Nous avons également recherché l'action de quelques substances (adrénaline, insuline seule) sur l'élaboration de substance à effet-sangsue par le cœur d'Escargot.

Les résultats obtenus dans ces différentes conditions sont rapportés dans le tableau suivant.

CŒURS EN FONCTIONNEMENT ISOTONIQUE

Durée de l'expérience		4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	4 j.	5 j.
Ringer ordinaire non éseriné	Myocarde			1,6				
	Perfusat							
	Total			*1,6*				
Ringer éseriné au 1/200.000	Myocarde	2,3	3,6	5,0 - 7,9		6,7-10,1		
	Perfusat	0,55	0,66	0,38- 6,8		0,8- 1,7		
	Total	*2,85*	*4,26*	*5,38-14-7*		*7,5-11,8*		
Ringer éseriné au 1/200.000 et glucosé au 1/1.000	Myocarde			9,2	9,2	2,7		
	Perfusat			2	6	28		
	Total			*11,2*	*15,2*	*30,7*		
Ringer éseriné au 1/200.000 glucosé au 1/1.000 + 10 U. insuline	Myocarde					1,4	.....	1,35
	Perfusat					2,1	.....	0,25
	Total					*3,5*	.....	*1,6*
Ringer éseriné au 1/200.000 + 10 U. insuline	Myocarde						2	
	Perfusat						0,65	
	Total						*2,65*	
Ringer éseriné au 1/200.000 glucosé 1/1.000 adrénaline au 1/200.000	Myocarde			6,75				
	Perfusat			0,15				
	Total			*6,9*				
Ringer prostigmine 1/200.000	Myocarde					3,3		
	Perfusat					4,2		
	Total					*7,5*		

La production « d'acétylcholine », exprimée en µg, est rapportée à 1 gramme de myocarde.

Une seule expérience, portant sur des cœurs en fonctionnement isométrique en présence de Ringer éseriné au 1/200.000 a donné, au bout de trois jours, les résultats suivants :

Myocarde : 0,8 µg; perfusat : 0,36 µg; total : 8,36 µg.

β) *Discussion.*

Ces expériences apportent la preuve que, dans tous les cas, le cœur excisé et perfusé élabore de l'acétylcholine qui est, pour partie, rejetée dans le perfusat, pour partie retenue dans l'intérieur du myocarde. Au point de vue quantitatif, les résultats obtenus dépendent du milieu de perfusion et du mode de fonction-

nement de l'organe. Alors qu'en moyenne, au départ, le cœur normal des animaux utilisés pour ces expériences contenait 0,9 µg d'acétylcholine, le fonctionnement de l'organe augmente cette teneur. Comme JULLIEN, A. et VINCENT, D. (**143**) l'avaient constaté, l'absence d'ésérine ne constitue pas un facteur favorable à la production d'acétylcholine.

Dans toutes les autres conditions, l'accroissement de la teneur en acétylcholine est considérable. L'enrichissement est progressif, au moins dans les premières 24 heures.

La teneur maxima du myocarde en acétylcholine est de 10,1 µg après 72 heures de fonctionnement en présence de Ringer ésériné.

Dans les perfusats, la quantité d'acétylcholine libérée est également très importante et croît avec le temps. Inférieure à 1 µg par gramme de myocarde pour une durée d'activité automatique de 4 à 8 heures, elle atteint 6,8 µg et 6 µg après 24 ou 48 heures. En présence de glucose, nous avons même obtenu 28 µg d'acétylcholine libérée par gramme de cœur dans le perfusat. Il est à noter qu'il semble exister une proportionnalité inverse entre les taux d'acétylcholine intracardiaque et ceux d'acétylcholine libérée dans les perfusats.

La présence de l'insuline dans le milieu de perfusion semble s'opposer à l'apparition massive de substance active sur le muscle de Sangsue, tout en favorisant l'automatisme de l'organe isolé qui peut battre pendant 5 jours de suite.

L'adrénaline semble réduire également la production de substance à effet-Sangsue par le cœur.

Enfin, lorsque le cœur est soumis à l'étirement ou se contracte isométriquement, on trouve encore des productions totales de 5,3 µg et 8,36 µg d'acétylcholine.

Ainsi, on voit que le cœur d'Escargot peut produire de grandes quantités de substance active sur le muscle de Sangsue en dehors de toute excitation nerveuse. Les conditions les plus favorables à cette élaboration sont la présence d'ésérine ou de prostigmine dans le milieu de perfusion, et la libre contraction de l'organe.

L'absence d'anticholinestérases dans le milieu physiologique semble favorable à la destruction de cette substance par des diastases tissulaires du ventricule.

Enfin, les contractions isotoniques paraissent libérer plus d'acétylcholine que les contractions isométriques. Tout semble se passer comme si la diffusion de cette substance était liée au brassage intracardiaque et au renouvellement du milieu de perfusion en contact avec la face interne de l'organe. Les contractions isométriques favoriseraient, au contraire la stase intracardiaque du liquide; dans ces conditions, le perfusat, localement saturé de substances actives, s'opposerait à toute libération supplémentaire de ce même produit.

En somme, l'apparition de l'acétylcholine est étroitement liée au travail fourni par l'organe et, dans nos conditions expérimentales, semble constituer un produit du métabolisme. L'action de l'insuline, favorisant l'utilisation du glucose (dans la mesure où ce sucre constitue un aliment naturel de l'Escargot) semble confirmer cette façon de voir; en rendant ce sucre utilisable, l'insuline empêcherait l'utilisation, par le tissu cardiaque, de ses protéines constitutives dont la dégradation, en présence d'ésérine, aboutirait à la formation d'un métabolite actif sur le muscle de Sangsue.

2) Le cœur est prélevé entre deux ligatures et perfusé par voie externe

Au cours de recherches plus récentes (**136**, **137**, **138**, **139**, **140**), nous avons repris l'étude de la libération de la substance active sur le muscle de Sangsue, en fonction du temps, de la composition ionique du milieu de perfusion et de la température, par le cœur de l'Escargot en fonctionnement isotonique ou isométrique, ou inactif, baigné par sa face externe.

α) *Evolution de cette production en fonction du temps*

Les cœurs sont montés en Ringer normal (concentration N) ésériné au 1/200.000 et conservés à la température du Laboratoire.

— *Cœurs en contraction isotonique*

Six cœurs entiers sont isolés, après pose de deux ligatures, l'une sur la veine pulmonaire d'abord, afin que l'organe puisse se vider de son hémolymphe, l'autre, sur l'aorte. On les suspend par le fil d'amont et on les immerge dans 10 cm³ de la solution physiologique ésérinée. Le fil d'aval porte une petite masse destinée à imprimer au myocarde une certaine tension favorable au maintien de l'automatisme; le liquide est changé de six heures en six heures. Dans ces milieux, les cœurs battent suivant un rythme régulier dont la fréquence diminue progressivement en fonction du temps. Tous les perfusats sont dosés par la méthode de Minz (muscle dorsal de Sangsue sensibilisé à l'ésérine), ainsi que le myocarde en fin d'expérience.

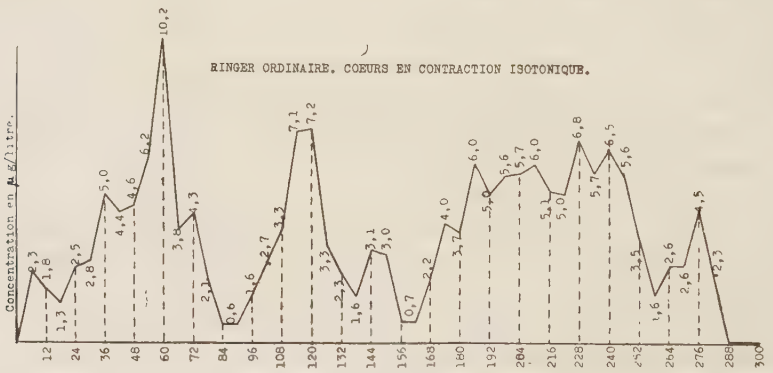

Figure 27. — Courbe de diffusion d'une substance active sur le muscle de sangsue, à partir de cœurs isolés d'*Helix pomatia*, en fonctionnement isotonique (échelle : 2/5).

Dans les conditions de température du laboratoire, l'expérience dure au maximum 300 heures, les diffusats, au-delà de ce laps de temps s'étant alors montrés dépourvus de toute action sur le muscle de Sangsue.

En fin d'expérience, le broyat de cœur accuse une teneur de 0,6 µg par gramme de tissu.

Les diffusats sont inégalement riches en « acétylcholine » : la production d'équivalent-acétylcholine par les cœurs n'est pas uniforme dans le temps. La courbe de la figure 27 traduit graphiquement ce fait; la teneur des diffusats, en

substance active sur le muscle de Sangsue, est exprimée en µg de substance par litre de diffusat.

La totalité de la substance diffusée dans ces conditions est de 11,1 µg par gramme de tissu.

Au cours d'expériences de moins longue durée (48 h), les résultats étaient les suivants :

broyat de cœur en fin d'expérience : 1,05 µg « acétylcholine » / g de tissu;

substance active sur le muscle de Sangsue, libérée par 1 g de tissu en 48 heures : 4,17 µg.

Par son allure, cette courbe représentant, en fonction du temps, la teneur des différents perfusats recueillis, se superpose au début de la courbe précédente.

En comparant les quantités totales de substance à effet-Sangsue mises en évidence dans ces deux expériences, on voit que la somme obtenue dans le premier cas (perfusion de longue durée) dépasse de beaucoup celle recueillie dans le second cas, autrement dit, on ne peut pas expliquer l'apparition de substance active dans les perfusats par un phénomène de diffusion passive de « l'acétylcholine » intracardiaque. Car, s'il en était ainsi, les quantités finales d'équivalent-acétylcholine seraient égales dans l'un et l'autre cas.

Il y a formation effective, à partir des constituants du myocarde, d'une substance active sur le muscle de Sangsue.

Ces complexes, à partir desquels se forme la substance, ne se scindent pas d'une façon uniforme dans le temps. C'est ce que traduit la courbe qui présente deux *apex* correspondant à des phases de diffusion relativement intense, chacune d'une durée de 84 heures environ, encadrant une période de diffusion minimale. C'est au cours de la seconde période de diffusion intense que se produit la plus grande libération de substance active sur le muscle de Sangsue. La diffusion devient nulle à partir de la 288e heure.

— *Cœurs en contraction isométrique*

Six cœurs sont prélevés entre des ligatures posées à leurs extrémités, et immergés dans une petite cuve présentant un appareillage spécial : au fond, de petits crochets, maintenus par de la cire, sont destinés à retenir la boucle inférieure de l'aorte, tandis qu'au bord supérieur de la cuve, un anneau de liège, sur lequel viennent se recourber les crochets glissés dans la boucle d'amont, empêche le contact du myocarde avec la paroi de la cuve.

Le dispositif est tel qu'on peut imprimer au cœur la tension voulue; celle-ci est réglée de façon telle que le cœur ne soit soumis à aucune tension au moment de la diastole, tandis que pendant la systole, le myocarde travaille contre des tensions variant en même sens que le raccourcissement de l'organe.

La libération d'acétylcholine observée de 6 en 6 heures, dans des volumes de 10 cm^3, est exprimée graphiquement sur le tracé de la figure 28. La courbe représentative du phénomène présente également deux apex correspondant sensiblement aux mêmes époques que précédemment (bien que dans nos expériences, les essais aient été arrêtés à la 180e heure, en raison de la rupture des attaches de trois cœurs).

En fin d'expérience, les cœurs contiennent encore 2,2 µg d'acétylcholine par gramme de tissu. Quant à la quantité totale de substance diffusée, rapportée à 1 gramme de cœur, elle est égale à 1,4 µg. Au total : 3,6 µg/gramme de tissu.

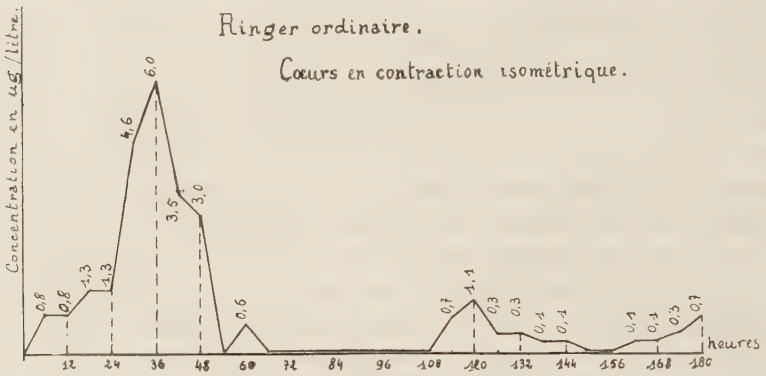

FIGURE 28. — Courbe de diffusion à partir de cœurs isolés d'*Helix pomatia*, en fonctionnement isométrique (échelle : 3/5).

L'expérience identique, ne portant que sur 48 heures, donne les résultats suivants : quantité de substance diffusée, rapportée à 1 gramme de myocarde : 0,55 µg. Teneur du cœur en fin d'expérience : 0,54 µg. Soit au total 1,1 µg de substance à effet-Sangsue produite par gramme de tissu.

— *Cœurs inactifs*

Ils sont excisés sans ligature préalable et reposent sur un mince lit de coton, placé au fond de la cuve. Les contractions, visibles dès l'excision, se manifestent un certain temps encore, puis deviennent imperceptibles.

La courbe de diffusion se trouve représentée, en fonction du temps, sur la figure 29. Au total, la quantité d' « acétylcholine » diffusée, rapportée à 1 gramme

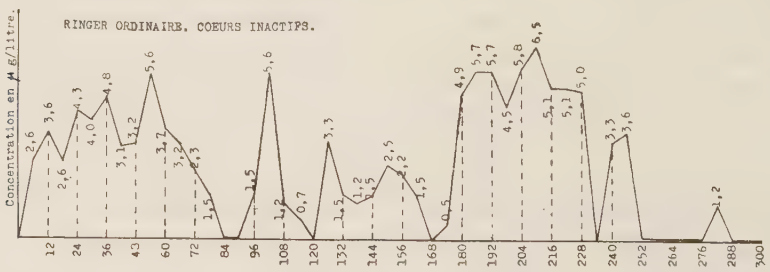

FIGURE 29. — Courbe de diffusion d'une substance active sur le muscle de sangsue, à partir de cœurs isolés, inactifs, d'*Helix pomatia* (échelle : 2/5).

de tissu, est égale à 7,3 µg. pour une expérience d'une durée totale de 300 heures. Au bout de ce délai, le myocarde contient encore 0,1 µg de substance active. Au total, on trouve 7,4 µg.

Pour une expérience d'une durée de 48 heures, les résultats furent les suivants :

diffusats (somme des quantités « d'acétylcholine » rapportées à 1 gramme de myocarde) : 1,06 µg. Broyat de cœur, en fin d'expérience : 3,56 µg. Total : 4,62 µg.

Les courbes représentant les concentrations atteintes par la substance diffusée, pour des périodes successives de 6 heures, dans le cas des cœurs isotoniques, isométriques ou inactifs, revêtent la même allure et révèlent que la diffusion n'est pas uniforme dans le temps.

Les cœurs normaux du lot d'Escargots ayant servi à ces expériences contenaient en moyenne 0,5 µg de substance à effet-Sangsue par gramme de tissu.

On note que les taux de diffusion les plus élevés s'observent dans le cas du fonctionnement isotonique du cœur; les productions les plus faibles « d'acétylcholine » ont lieu en contraction isométrique.

Que les cœurs inactifs produisent moins de substance active que les cœurs en fonctionnement isotonique, cela peut se comprendre puisque l'élaboration de ce produit est liée au travail de l'organe. Pour les cœurs en contraction isométrique, il y a également production de travail par l'organe isolé et pourtant la libération « d'acétylcholine » est moindre que dans le cas des cœurs isotoniques. Dans ce dernier cas, les taux élevés de diffusion tiennent peut-être, pour une part, au mouvement de brassage créé par les pulsations cardiaques, facilitant l'élimination, à l'extérieur du myocarde, de la substance élaborée à son intérieur; celle-ci ne peut s'accumuler aux points préférentiels où elle apparaît et sa genèse ultérieure en est favorisée d'autant. Par contre, l'étirement des cœurs dans la position isométrique constitue vraisemblablement un obstacle à cette diffusion; aussi, la substance produite s'accumule-t-elle, dans une certaine mesure, à l'intérieur du myocarde où elle peut atteindre le taux de 2,2 µg, bien supérieur à celui déterminé pour les cœurs des deux autres lots.

β) *Influence des basses températures sur la production d'équivalent-acétylcholine par le cœur isolé d'Escargot* **(137, 139, 140)**

Les cœurs étaient répartis en deux lots de 6. Un premier lot est monté de façon à fonctionner sur un mode isotonique, le deuxième lot constituant celui des cœurs inactifs.

Tous deux sont placés en glacière, à la température de + 2°C. Les solutions sont remplacées de 8 en 8 heures par des solutions neuves.

Dans ces conditions, les cœurs isotoniques présentent des contractions régulières, lentes, avec une décontraction moins rapide que la systole. Pour certains exemplaires, les deux étages se contractent; pour d'autres, seul, l'oreillette ou le ventricule est encore doué d'automatisme. Les changements de liquide provoquent une accélération momentanée des contractions, en raison peut-être des différences de température entre les perfusats et le liquide frais.

L'activité du premier lot diminue progressivement et cesse vers le 15e jour. L'arrêt des contractions coïncide avec la disparition de l'effet-Sangsue des perfusats. Aussi, les expériences n'ont-elles pas été prolongées au-delà de ces délais (400 heures).

— *Discussion*

Les résultats de ces expériences montrent qu'une basse température, pas plus qu'elle ne supprime l'automatisme cardiaque chez l'Escargot, n'empêche la production et la diffusion d'une substance à effet-Sangsue. Celle-ci n'est que diminuée quantitativement, tout en restant toujours appréciable. En effet, la quantité diffusée pour les cœurs isotoniques correspond à 7,7 µg « d'acétylcholine » par gramme de myocarde, tandis que pour les cœurs inactifs, elle est de 5,7 µg. Dans l'organe lui-même, les quantités « d'acétylcholine » restant en fin d'expérience sont faibles et n'atteignent, respectivement que 0,4 µg et 0,3 µg par gramme de tissu. Au total, l'élaboration de substance active est égale, pour les cœurs isotoniques, à 8,1 µg, pour les cœurs inactifs, à 6 µg, par gramme de myocarde.

Les courbes montrent que la libération est plus marquée dans les quatre premiers jours que dans le reste de l'expérience, que ce soit pour les cœurs inactifs (fig. 30) ou pour les cœurs isotoniques (fig. 31).

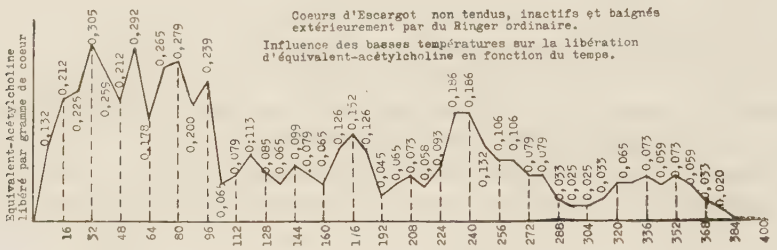

FIGURE 30. — Courbe de diffusion de la substance à effet-Sangsue pour les cœurs isolés et inactifs. En ordonnées, l'équivalent-acétylcholine est exprimé en µg par gramme de cœur.

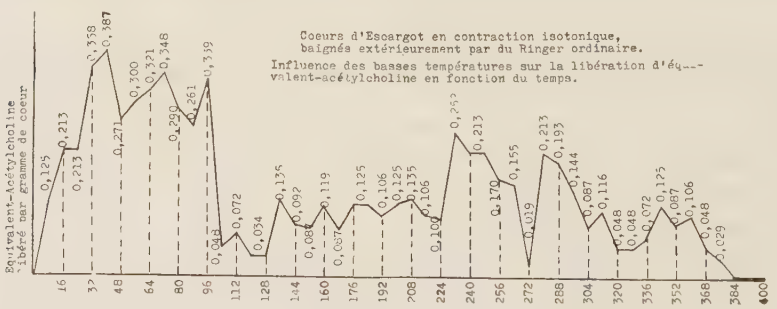

FIGURE 31. — Courbe de diffusion de la substance à effet-Sangsue pour les cœurs isolés en contraction isotonique. En ordonnées, l'équivalent-acétylcholine est exprimé en µg par gramme de cœur.

γ) *Influence quantitative des variations de concentration de la solution physiologique sur la production d'équivalent-acétylcholine* (**139**)

Au cours des expériences précédentes, la solution physiologique utilisée avait comme composition : NaCl : 6,5 g; KCl : 0,14; $CaCl^2$: 0,12 g; eau distillée : q.s. pour 1 litre.

Nous avons voulu voir si la diffusion de la substance active sur le muscle de Sangsue était liée au pouvoir osmotique de la solution utilisée.

En appelant N la concentration normale du Ringer ordinaire, nous avons choisi comme nouveaux milieux expérimentaux, des solutions de concentrations N 2, 1,5 N et 2 N mais de rapports ioniques égaux à ceux du Ringer, soit A/AT = 110 et Na/K = 60.

Nos observations s'étalent sur une durée de 48 heures.

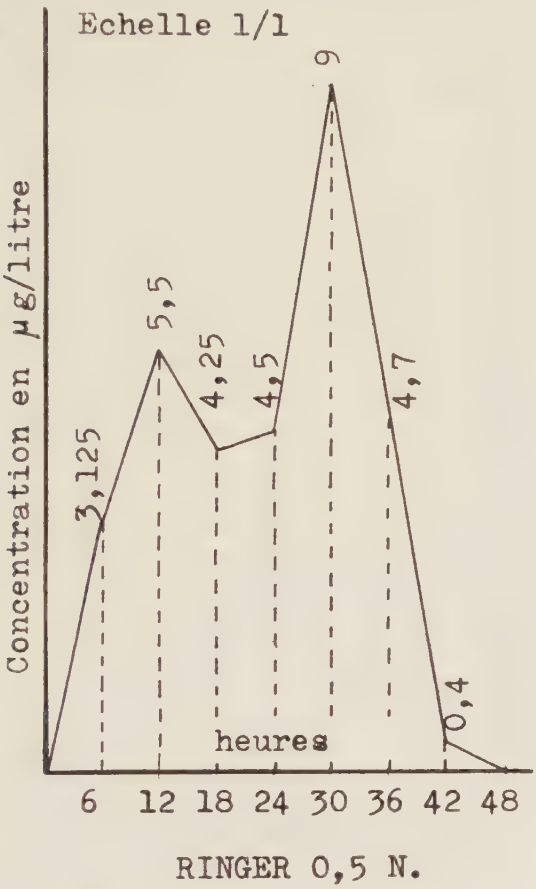

FIGURE 32. — *Ringer 0,5 N* (hypotonique par rapport au Ringer ordinaire).
Courbe de diffusion de la substance à effet-Sangsue pour des cœurs isolés, fonctionnant isotoniquement.

Avant les dosages, on a soin de ramener ces solutions à une concentration égale à celle du Ringer, pour éviter que leur application brutale sur le muscle de Sangsue, lors du dosage, ne produise des perturbations dues aux changements de concentration.

a) *Dans le Ringer N/2* — Ce milieu n'arrête pas les cœurs qui battent pendant toute la durée de l'expérience, sur une fréquence d'abord rapide, puis plus lente que dans le Ringer ordinaire. Les rythmes sont irréguliers et inéqui-

valents pour les différents cœurs; ils s'accélèrent à chaque changement de liquide.

Les quantités de substance active sur le muscle de Sangsue libérées, exprimées en fonction du temps, se traduisent par la courbe de la figure 32. Pour cette expérience, la quantité totale diffusée est égale à 1,45 µg. Le broyat du cœur contient encore 7,2 µg. Au total, on trouve donc 8,66 µg.

b) *Dans le Ringer* 1,5 *N* — Là encore, les cœurs restent automatiques pendant les 48 heures, mais d'une façon irrégulière. Les concentrations des perfusats sont indiquées par la courbe de la figure 33. On trouve en tout, 3,16 µg pour

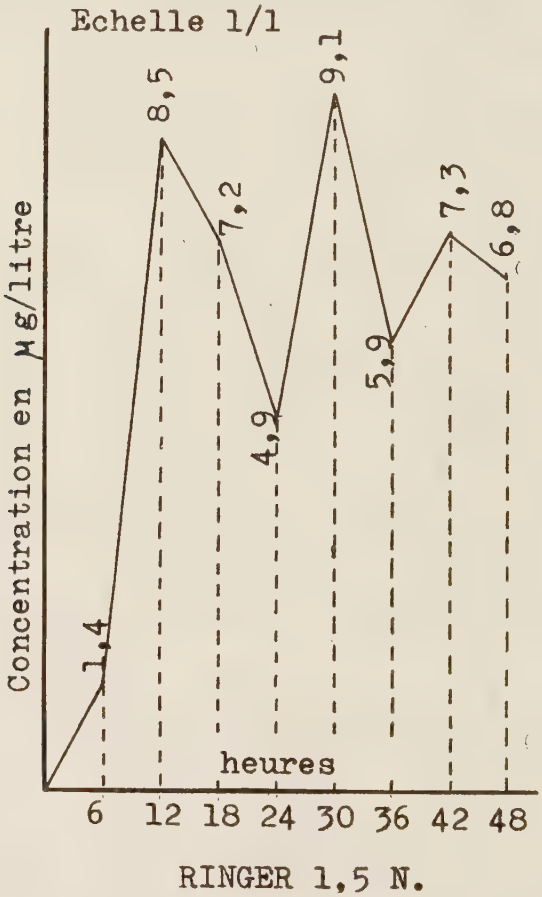

FIGURE 33. — *Ringer 1,5 N* (hypertonique par rapport au Ringer ordinaire). Courbe de diffusion de la substance à effet-Sangsue pour des cœurs isolés, fonctionnant isotoniquement.

les perfusats, tandis que le broyat renferme en fin d'expérience 2,24 µg. Au total, par gramme de cœur : 5,4 µg.

c) *Dans le Ringer* 2 *N* — L'activité des cœurs immergés dans ce milieu est également irrégulière. Comme pour les cas précédents, le rythme s'accélère à chaque changement de liquide.

La courbe de la figure 34 traduit en fonction du temps, les quantités d'équivalent-acétylcholine libérées par les cœurs. Au total, pour les perfusats, on trouve : 7,15 µg; pour le broyat de cœurs, 2,05 µg. Au total, 1 gramme de cœur a élaboré 9,1 µg de substance à effet-Sangsue.

Rappelons que le cœur normal du lot d'Escargots utilisés contenait 0,5 µg de substance active par gramme de tissu. Toutes ces expériences restent négatives si l'on opère en l'absence d'ésérine.

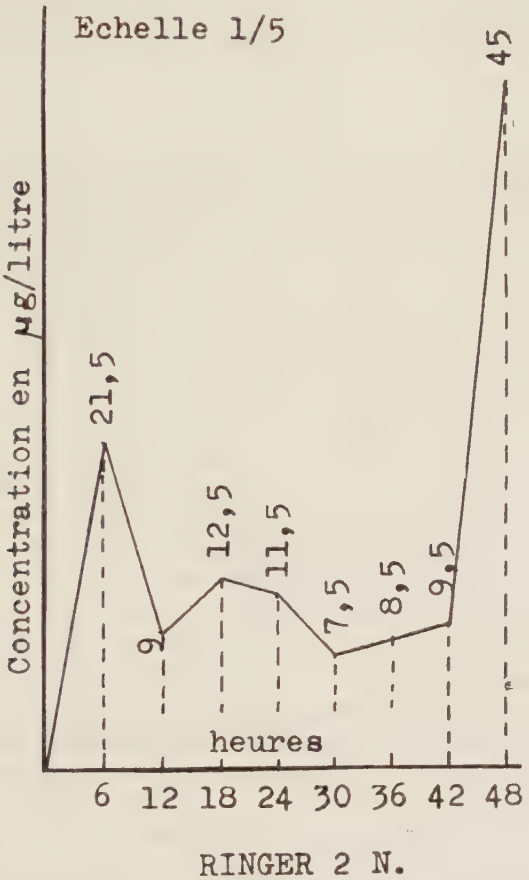

FIGURE 34. — *Ringer 2 N* (hypertonique par rapport au Ringer ordinaire).
Courbe de diffusion de la substance à effet-Sangsue pour des cœurs isolés, fonctionnant isotoniquement.

b) Influence quantitative de la variation du rapport Na K du milieu de perfusion (**138**, **139**), *sur la production d'équivalent-acétylcholine*

Dans la série d'expériences suivantes, les milieux utilisés étaient tous isotoniques au Ringer ordinaire. Le rapport A/AT, de l'ensemble des ions alcalins A (= $Na^+ + K^+$) à l'ion alcalino-terreux AT (= Ca^{++}) restait constant. Seul variait le rapport Na/K auquel nous avons donné les valeurs 10 (milieu

riche en potassium), 55 (liquide physiologique), 225 (milieu pauvre en K^+) et ∞ (pas de potassium).

Ces solutions, appliquées directement sur le muscle de Sangsue, ne provoquent pas de perturbations sensibles. Aussi, au cours de nos essais portant sur un liquide de type donné, le muscle était-il monté dans ce liquide et étalonné au moyen de solutions d'acétylcholine standard également constituées à partir de cette même solution.

Par contre, nous n'avons pu poursuivre nos expériences avec des solutions telles que Na/K = 5 et Na/K = 0 (où K constitue à lui seul la totalité des alcalins), car ces milieux mettent en contracture le muscle de Sangsue sur lequel on les applique.

— *Résultats* — *Na/K* = 10

a) *Attitude fonctionnelle des cœurs.* — Ils ont pulsé jusqu'à la 32e heure; le rythme était rapide, les diastoles incomplètes. On note une tendance à la systolisation. En fin d'expérience, les cœurs sont arrêtés en systole.

b) *Diffusats.* — Les quantités de substance équivalente à l'acétylcholine libérées sont rapportées à 1 gramme de tissu et évaluées en µg. En 48 heures, la quantité d'acétylcholine élaborée est égale à 1,38 µg.

c) *Broyat.* — La quantité restante est, après la 48e heure, de 0,73 µg par gramme de myocarde.

d) *Production totale* (*diffusats* + *broyat*) — 2,11 µg par gramme de myocarde.

— *Na/K* = 55

a) *Attitude fonctionnelle des cœurs;* rythme régulier dont la fréquence ne diminue que faiblement en fin d'expérience.

b) *Diffusats.* Au cours de la première journée : 1.37 µg; au cours de la seconde : 2,80 µg. Soit un total de 4,17 µg.

c) *Broyat :* 1,05 µg.

d) *Production totale* (*diffusats* + *broyat*) *:* 5,22 µg/g de myocarde.

— *Na/K* = 225

a) *Attitude fonctionnelle des cœurs.* — Ils restent automatiques pendant les six premières heures, manifestant un rythme rapide et irrégulier. Arrêtés, ils sont systolisés.

b) *Diffusats.* Pendant les premières 24 heures : 0,5 µg; au cours de la seconde journée : 0,72; soit au total : 1,22 µg.

c) *Broyat :* 0,35 µg.

d) *Production totale* (*diffusats* + *broyat*) *:* 1,57 µg par gramme de myocarde.

— *Na/K* = ∞

a) *Attitude fonctionnelle des cœurs.* Au début, ils pulsent rapidement, puis le rythme se ralentit; la décontraction s'accentue; après quelques heures, ils s'arrêtent en diastole.

b) *Diffusats :* première journée : 1,05; seconde journée : 0,68; au total : 1,73 µg de substance diffusée.

c) *Broyat :* 0,77 µg.

d) *Production totale* (*diffusats* + *broyat*) : 2,5 µg par gramme de myocarde.

— *Discussion des résultats*

En présence de Ringer ordinaire ésériné, la quantité d'équivalent-acétylcholine élaborée par le cœur est notablement supérieure dans le cas du fonctionnement isotonique, à celle élaborée dans toutes les autres positions du cœur.

La diffusion de cette substance se fait en trois périodes nettement distinctes : deux phases de diffusion maximale, chacune d'une durée d'environ 84 heures, encadrent une phase de diffusion minimale d'une durée également de 84 heures. C'est dans la troisième période de 84 heures que l'on enregistre le total le plus élevé de substance diffusée.

Cette allure générale de la courbe à deux maxima se retrouve pour des organes en position fonctionnelle variable : fonctionnement isotonique, isométrique ou inactif. Les basses températures semblent n'avoir pour effet, que l'étalement de la courbe en fonction du temps.

Quelle est l'origine de cet équivalent-acétylcholine? La présence d'ésérine est indispensable à son élaboration.

On a vu qu'il y avait une relation très étroite entre le travail mécanique fourni par l'organe et la quantité d'équivalent-acétylcholine produite. Tout se passe comme si le cœur, pour produire ce travail, puisait dans sa substance même les aliments nécessaires à son activité : ces derniers seraient de nature protidique.

Cette façon de voir semble trouver une confirmation dans le fait que, lorsque le cœur trouve dans le milieu de perfusion un aliment de nature glucidique, en l'occurence du glucose associé à de l'insuline (sans vouloir préjuger du rôle éventuel de l'insuline dans l'organisme de l'Escargot) qui lui évite de dégrader ses protides, l'apparition « d'acétylcholine » est négligeable. Ainsi, « l'acétylcholine » formée ne constituerait donc qu'une étape finale du métabolisme protidique de l'organe en présence d'ésérine et s'apparenterait de ce fait, étroitement aux métabolites de travail mis en évidence pour la première fois par Joffe (**113**).

Il est donc aisé de comprendre que les basses températures, qui ralentissent toutes les réactions chimiques, freinent également l'élaboration de la substance à effet-Sangsue, en même temps que l'activité de l'organe est diminuée. Quantitativement, on observe, après 300 et 400 heures de fonctionnement automatique, une légère différence entre la production d'équivalent-acétylcholine à température normale et à basse température. En fait, il semble que l'on puisse négliger cet écart : en effet le cœur semble vivre sur un stock donné de substance nutritive. S'il consomme rapidement ses aliments, son automatisme sera de brève durée. Au contraire, s'il les consomme lentement (sous l'effet d'une basse température par exemple) son automatisme se maintiendra plus longtemps. Dans l'un et l'autre cas, la quantité finale de substance à effet-Sangsue produite sera la même, compte tenu des différences existant entre les réserves nutritives propres à chaque organe.

Enfin, devant la diversité des résultats obtenus dans ces expériences variées, nous avons pensé qu'il serait peut-être intéressant de comparer les productions d'équivalent-acétylcholine par le cœur placé dans un milieu de rapport ionique

donné mais de concentration globale variable. Pour cela, nous avons groupé dans le tableau suivant les résultats expérimentaux portant sur des séries de cœurs en fonctionnement isotonique pendant des périodes de 48 heures; le liquide de perfusion était changé toutes les 6 ou 8 heures.

Dans la ligne supérieure, nous avons groupé le total des quantités d'équivalent-acétylcholine libérées dans chaque perfusat rapportées à 1 gramme de myocarde.

Dans la ligne moyenne, la quantité d'acétylcholine restant incluse à l'intérieur du myocarde.

Enfin, dans la ligne inférieure, sont portées les sommes des deux quantités précédentes pour chaque groupe d'expérience.

MILIEU DE PERFUSION : RINGER ORDINAIRE ésériné au 1/200.000. Durée des expériences : 48 heures.

Cœurs en contraction isotonique A/AT = 110 Na/K = 55

Température :	+ 2° C	+ 18° C (temp. du labo.)				
Concentration	Ringer ordinaire ésériné		N	0,5 N	1,5 N	2 N
Diffusat	1,567	4,17	1,51	1,46	3,16	7,15
Broyat	? (1)	1,05	? (1)	7,2	2,24	2,05
Total	?	5,22	?	8,66	5,40	9,2

L'examen de ce tableau montre que la production d'équivalent-acétylcholine par le cœur immergé dans des solutions de Ringer, est d'autant plus grande que la concentration moléculaire de ces solutions s'écarte de la concentration normale du Ringer.

Si la production de substance à effet-Sangsue est augmentée dans les solutions hyper- ou hypotoniques, la teneur des diffusats et des broyats n'est pas la même dans les deux cas.

Pour les solutions hypotoniques, la plus grande partie de la substance active élaborée reste incluse dans le myocarde, tandis que pour les solutions hypertoniques, le myocarde a laissé diffuser une quantité notable d'équivalent-acétylcholine.

Dans ce cas, il ne semble pas que l'accumulation de « l'acétylcholine » intracardiaque constitue un obstacle à sa formation, comme nous l'avions supposé pour justifier les faibles quantités de substance active produites par les cœurs fonctionnant en position isométrique.

(1) Ces résultats représentent la somme des taux d' « acétylcholine » produits au cours des 48 premières heures des expériences de longue durée. Il n'est donc pas possible de donner la valeur de « l'acétylcholine » intracardiaque.

Plus les solutions s'éloignent de la concentration du Ringer ordinaire, plus la production est abondante.

Les solutions N et 1,5 N, dont l'équivalent osmotique, exprimé en quantité NaCl par litre, est respectivement de 6,8 et 10,18 g NaCl/litre d'eau, s'éloignent fort peu d'ailleurs de la composition de l'hémolymphe qui, nous l'avons vu, peut varier, par sa concentration globale (exprimée en solution NaCl isotonique) de 5,7 g à 8,5 g NaCl/litre. Ces productions minimales d'équivalent-acétylcholine correspondraient donc à des conditions presque physiologiques. Il est donc possible que le métabolisme de l'organe soit très peu modifié par rapport à la normale, ce qui expliquerait les faibles quantités d' « acétylcholine » produites.

Les solutions 0,5 N et 2 N semblent agir, non seulement sur la production de substance à effet-Sangsue, mais également sur sa diffusion dans le milieu extérieur.

Les solutions fortement hypotoniques s'opposent au passage du produit formé dans le liquide de perfusion, donc imperméabilisent la membrane cellulaire; les solutions hypertoniques, au contraire, favorisent l'élimination du produit.

Dans un deuxième tableau, nous avons collationné les résultats obtenus en perfusant les cœurs par des solutions de concentration moléculaire globale constante (λ constant) mais dans lesquelles le rapport Na/K était variable.

MILIEU DE PERFUSION ISOTONIQUE AU RINGER
(équivalent osmotique = 0,114 mol NaCl/litre)
Durée des expériences : 48 heures — Valeur du rapport A/AT = 110

Valeur du rapport	Na/K = 10	Na/K = 55 (Ringer ord.)	Na/K = 225	Na/K = ∞
Diffusat	1,38	4,17	1,22	1,73
Broyat	0,73	1,05	0,35	0,77
Total	2,11	5,22	1,57	2,50

Les solutions Na/K = 10 sont fortement hyperpotassiques; l'action de l'ion K^+ n'est pas compensée par la présence d'une quantité suffisante de Ca^{++}. L'organe a tendance à s'arrêter en systole. De toutes façons, la faible production « d'acétylcholine » notée dans ce cas correspond à un travail réduit de l'organe.

Les solutions Na/K = 225 sont hypopotassiques. L'activité de l'organe est également réduite, ce qui se traduit par une faible production de substance à effet-Sangsue.

Enfin, dans les solutions Na/K = ∞, le cœur ne fonctionne que pendant quelques heures, ce qui justifie les faibles taux de substance active élaborée.

Il n'est pas possible de tirer de conclusions en ce qui concerne l'action des ions sur la perméabilité des membranes cellulaires vis-à-vis du produit formé.

3) Critiques des résultats

Avant de quitter ce sujet de la libération spontanée d'acétylcholine par le cœur isolé fonctionnant régulièrement, il convient d'examiner la valeur des techniques utilisées pour la mise en évidence de la substance active : d'une part le test, le muscle dorsal de Sangsue ésériné, d'autre part l'emploi de l'ésérine.

α) *Etude du test : le muscle dorsal de Sangsue*

— *Sensibilité du muscle de Sangsue*

La technique du muscle dorsal de Sangsue a été introduite en 1918 par Führer, H. (**84**) pour le dosage biologique à l'acétylcholine. Minz, B. (**188**) l'a reprise en 1932 en la présentant comme une méthode « très *sensible* et hautement *spécifique* pour le dosage biologique de l'acétylcholine ».

Il est de fait que pour le dosage de l'acétylcholine standard, ce test présente une sensibilité remarquable. D'après Minz, B. le muscle de Sangsue, après sensibilisation à l'ésérine, serait capable de répondre à des concentrations d'acétylcholine allant jusqu'à 10^{-9} - 10^{-10}, ce qui correspond à des teneurs de 1 µg à 0,1 µg par litre.

Cependant, il est reconnu que cette sensibilité est sujette à de grandes variations. Il est évident que la composition ionique du milieu physiologique dans lequel se trouve plongé le muscle, puisse l'influencer. Mais il existe également d'autres facteurs qui nous échappent, et qui modifient profondément la susceptibilité du test.

Les animaux provenant directement de leur milieu naturel sont en général insensibles ou très peu sensibles; un jeûne d'une quinzaine de jours semble augmenter les réponses du muscle dorsal de l'animal.

Mais dans un tel lot, préparé, la sensibilité, pratiquement constante pendant des semaines, arrive à disparaître spontanément, sans raisons apparentes, pendant une dizaine de jours, et reparaît de façon non moins paradoxale. Bien mieux, il nous est arrivé de voir que, dans la phase de transition entre une période de haute sensibilité et une période d'insensibilité, des deux bandelettes musculaires prélevées sur la même Sangsue, l'une se montrait très sensible le matin, tandis que l'autre, utilisée 3 à 6 heures plus tard ne répondait plus du tout aux dilutions d'acétylcholine qui étaient encore actives lors des premiers essais (toute question d'hydrolyse mise à part, bien entendu).

— *Spécificité*

La spécificité du test est beaucoup plus discutable. Dès 1921, les recherches de Teschendorff (**245**) montraient que certains ions minéraux, à forte concentration il est vrai, augmentaient le tonus de la préparation. C'est le cas de NO^{3-}, I^-, SCN^-, K^+, Ba^{++} et NH^{4+}, tandis que l'insuffisance de Na^+, et que l'excès de Mg^{++} produisaient les effets inverses.

Des substances organiques telles que l'histamine, la peptone sont sans action. La choline et la neurine sont actives à fortes concentrations (1/10.000). L'atropine serait faiblement active, tandis que l'adrénaline et la tyramine seraient inefficaces sur la préparation énervée (Minz, B.) (**188**).

D'après Fontaine, T. (**76**), des poisons musculaires tels que la spartéine,

la vératrine, la triméthylamine, etc..., provoquent une contraction importante, maximale et irrégulière du muscle. Les acides aminés, la lécithine, l'urée, le curare, l'histamine, la guanidine et la créatine seraient sans action.

EMMELIN, N. et KAHLSON, G. (**67**) signalent par contre l'action de la créatinine et son action sensibilisatrice vis-à-vis de l'acétylcholine.

Il convient de reconnaître pourtant que les concentrations exigées pour provoquer un effet sur le muscle de Sangsue sont relativement considérables, par rapport à celles efficaces, de l'acétylcholine. Mais il est difficile, en présence d'une contraction musculaire produite par application d'un broyat, de dire que cette contraction est due à l'acétylcholine, alors qu'on ignore tout des autres constituants du broyat, leur nature, leur activité Sangsue, et surtout leur concentration respective dans le mélange, sans parler des synergismes toujours possibles dans des milieux aussi complexes.

Pour CHANG, H.C. et GADDUM, J.H. (**50**), la part qui revient à l'acétylcholine est reconnaissable aux caractères suivants :

1) Son action sur le muscle de Sangsue doit être augmentée dans de grandes proportions par l'ésérine.

2) L'activité contracturante de la préparation doit disparaître rapidement lorsqu'on ajoute du sérum à l'extrait neutralisé.

3) Le passage en milieu fortement alcalin, pendant 10 minutes environ, à la température ordinaire, doit détruire tout effet-Sangsue.

Ce n'est que dans le cas où ces trois conditions sont réunies que l'on peut affirmer, suivant ces auteurs, que la contraction de la préparation hirudinique est bien due à l'acétylcholine.

En fait, si ces caractères discriminants restreignent le nombre de substances actives possibles, ils n'ont rien de spécifique vis-à-vis de l'acétylcholine et les exceptions que l'on peut rencontrer sont nombreuses.

β) *Etude de l'action anticholinestérasique de l'ésérine*

L'ésérine, alcaloïde de la fève de Calabar, entre dans le domaine pharmacodynamique en 1864, en raison de ses propriétés myotiques découvertes par FRASER (**80**), HARNACK, E. et WITKOWSKI (**100**). Son action ne se manifeste qu'en fonction de l'intégrité des terminaisons nerveuses postganglionnaires des nerfs ciliaires; si la dégénérescence nerveuse, après section du nerf, les atteint, l'alcaloïde perd ses propriétés contracturantes sur les fibres circulaires [ANDERSON, H.K. (**5**)].

Par ses autres propriétés, excito-inhibitrices au niveau du cœur lorsqu'elle est utilisée à faible dose [WINTERBERG, H. (**267**)], excito-motrices au niveau du tractus intestinal [JACOBI, C. (**112**), UNGAR, M. (**250**)], et au niveau des muscles lisses de Reisessen [broncho-constriction, DIXON et BRODIE (**60**), TRENDELENBURG (**249**)] excito-sécrétrices au niveau des glandes sudoripares, lacrymales, salivaires, gastriques et pancréatiques, cet alcaloïde fut longtemps classé parmi les parasympathomimétiques.

Dès 1914, DALE, H.H. (**55**) supposait que l'acétylcholine introduite dans l'organisme était détruite par un processus fermentaire.

En 1918, FUHNER, H. (**84**) montre que la sensibilité du muscle de Sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine standard est augmentée de près de un million de fois par action de l'ésérine.

Enfin, FRÖHLICH, A. et PICK, E.P. (**83**) montrent que le cœur de Grenouille est sensibilisé, par cette même substance, à l'action du calcium, des sels ammonium quaternaire, de la strophantine.

Tous ces résultats préliminaires trouvent une application directe dans les expériences de LOEWI, O. et NAVRATIL, E. (**175**) qui cherchent à expliquer l'action du vague sur le cœur par la libération d'acétylcholine au niveau des terminaisons intracardiaques du nerf. L'ésérine, en bloquant le système fermentaire détruisant l'acétylcholine, favorise l'action de cette dernière.

Cette conclusion, logique en première approximation, a conduit les Physiologistes à admettre que toute action nerveuse, renforcée par l'ésérine, est justiciable d'une explication cholinergique. « Pour les Physiologistes, l'ésérine a constitué un moyen d'investigation précieux, susceptible de mettre en évidence les phénomènes dans lesquels intervenait l'acétylcholine en tant que médiateur chimique ou hormone » [BOVET, D. et BOVET-NITTI, F. (**29**)].

Cependant, l'action anticholinestérasique de l'ésérine ne représente pas l'ensemble de ses effets.

KAHANE, E. et LEVY, J. (**153**) travaillant sur le muscle de Sangsue, (dont la sensibilisation par l'ésérine s'expliquerait par le blocage des cholinestérases) trouvent qu'il n'y a pas parallélisme strict entre la destruction, par le sérum, des différents esters de la choline et la potentialisation des effets de ces substances par l'ésérine.

A part l'ésérine, il existe de nombreux autres inhibiteurs de la cholinestérase : ergotamine, fluorures, prostigmine, histamine, muscarine, éphédrine, di-iso-propyl-fluoro-phosphate (D.F.P.) qui ont cependant, sur le muscle de Sangsue, une très faible action sensibilisatrice (**19**, **152**, **154**).

Inversement l'ésérine sensibilise le muscle à des substances non choliniques (baryum, calcium, muscarine, nicotine, neurine, strophantine, bétaïne) et non touchées par la cholinestérase.

CORTEGGIANI, E. (**53**) admet que l'ésérine agit en hypersensibilisant la cellule vis-à-vis de l'acétylcholine.

C'est également une opinion analogue que soutient MARSAN, C.A. (**180**) qui réfute l'argument suivant lequel l'ésérine aurait une action anticholinestérasique.

Cette action propre de l'ésérine est également signalée au niveau d'autres muscles que celui de la Sangsue. RIKER, W.F. et WESCOE, W.C. (**225**) la mentionnent au niveau du muscle strié. MIQUEL, O. (**192**) trouve que l'ésérine augmente la réponse du muscle droit abdominal de la Grenouille à l'acétylcholine.

GERARD, R.W. (**89**) met en doute l'importance du couple cholinestérase-acétylcholine dans la physiologie du nerf et suggère d'étudier d'autres facteurs du métabolisme nerveux, tandis que BOYARSKI, L.L., TOBIAS, J.M. et GERARD, R.W. (**30**) montrent que le blocage des cholinestérases par le D.F.P. ne perturbe pas la conduction nerveuse.

ECCLES, J.C. **(64)** soulève la même objection en ce qui concerne la transmission synaptique dans la moelle.

Ainsi, l'action de l'ésérine est beaucoup plus complexe que ne le voudrait la théorie.

Quant au substrat sur lequel agit l'ésérine, la cholinestérase, les recherches ont montré qu'il ne constituait pas une unité homogène.

En principe, la cholinestérase fait partie du groupe des estérases, qui comprend les estérases proprement dites (hydrolysant les esters d'acides et d'alcools de faible poids moléculaire) et les lipases (hydrolysant les combinaisons de la glycérine avec les acides gras aliphatiques de poids moléculaire élevé). Ces deux derniers types d'enzymes, hydrolysant des substrats ne renfermant pas d'azote sont encore groupés sous le nom d'ali-estérase [RICHTER, D. et CROFT, P.G. **(222)**].

ALLES, G.H. et HAWES, R.C. **(4)** ont été les premiers à signaler les différences d'activité des cholinestérases sérique et globulaire. Aussi subdivise-t-on actuellement, à la suite de MENDEL, B., MUNDELL, D. et RUDNEY, H. **(182)**, les groupes de cholinestérases en cholinestérases vraies (*true cholinesterase* ou cholinestérases spécifiques ou de type *e*) hydrolysant les esters de l'acétylcholine, et les pseudo-cholinestérases (ou cholinestérases non spécifiques ou de type *s*) hydrolysant les autres esters de la choline.

Les recherches de RICHTER, D. et CROFT, P.G. **(222)** montrent, en prenant comme référence, l'hydrolyse de l'acétylcholine standard, que la cholinestérase globulaire agissant sur de la tributyrine ou butyrate de méthyle, entraîne une hydrolyse égale à 3 % de la valeur étalon. Par contre, le taux d'hydrolyse obtenu par la cholinestérase sérique agissant sur le même substrat est beaucoup plus élevé. Autrement dit, la spécificité hydrolytique de cette dernière cholinestérase est beaucoup moins étroite que pour la cholinestérase globulaire.

Pratiquement, il serait possible de reconnaître les deux types de cholinestérases par leur activité. Ainsi, la pseudo-cholinestérase hydrolyserait les esters propionique et butyrique de la choline beaucoup plus rapidement que l'acétylcholine même, tandis que sur l'ester acétique de la méthylcholine, elle serait moins active que la cholinestérase vraie **(182)**.

De plus les différents inhibiteurs des cholinestérases seraient inégalement efficaces sur ces deux types d'enzymes.

Le D.F.P. agirait d'abord sur la pseudo-cholinestérase, puis sur la vraie **(101, 102)**.

En fait il semble bien que toutes ces distinctions soient artificielles.

GOMORI, G. **(91)** fait remarquer que la spécificité des deux grands groupes : ali-estérases et cholinestérases n'est pas absolue. Leur différence essentielle réside surtout dans leur sensibilité inégale vis-à-vis de l'ésérine, les secondes étant 100.000 fois plus sensibles que les premières à cette drogue. Parmi les cholinestérases, les frontières sont tout aussi peu marquées : « il semble que les cholinestérases constituent une famille d'enzymes avec des spécificités quelque peu divergentes, mais se recouvrant (GOMORI). Ce fait rend bien imprécise la limite entre les cholinestérases spécifiques et non spécifiques » [VERNE, J. **(251)**].

On voit donc que l'action de l'ésérine sur l'activité cellulaire reste encore à préciser.

4) Conclusions

En prenant comme critère d'identification de la substance entraînant la contracture du muscle de Sangsue, les caractères proposés par Chang, H.C. et Gaddum, J.H. (**50**) (entre autres, potentialisation de la contraction par l'ésérine, hydrolyse rapide du produit en l'absence d'ésérine) il s'ensuit que le cœur d'Escargot, en présence d'ésérine, au cours de son fonctionnement, libère de l'acétylcholine.

Cependant, nous ne nous croyons pas obligés de suivre Minz, B. dans ses conclusions lorsqu'il affirme que le muscle de Sangsue représente un test spécifique pour l'acétylcholine, pas plus que nous n'adopterons comme déterminants les caractères proposés par Chang, H.C. et Gaddum, J.H. (**50**) pour l'identification de l'acétylcholine dans les milieux biologiques.

S'il en était ainsi, nos expériences permettraient de constater que seuls les cœurs en fonctionnement isotonique élaborent, en quantité massive de l'acétylcholine; les cœurs en fonctionnement isométrique sont placés dans des conditions moins favorables pour cette élaboration. Enfin des cœurs inactifs libèrent très peu de substance.

Dans ces conditions, la production d'acétylcholine serait étroitement liée à l'extériorisation d'un travail mécanique par le cœur isolé et non à l'inhibition de l'organe comme le postule la théorie de Loewi.

En fait, les critères d'identification de l'acétylcholine sont toujours insuffisants, même à l'heure actuelle, et ne permettent guère d'affirmer l'homologie acétylcholine-substance à effet-Sangsue.

Aussi, toutes ces expériences tendant à mettre en évidence la production d'acétylcholine en dehors de toute excitation nerveuse, n'ont-elles rien de bien significatif en tant qu'objection à la théorie cholinergique, puisqu'on n'est pas sûr d'être en présence d'acétylcholine.

Logiquement, aux termes de ces recherches « préliminaires », ou pourrait être tenté de penser qu'il est vain de chercher à combattre la théorie cholinergique sur un terrain où l'acétylcholine n'entre manifestement pas en jeu.

Cependant, cette même objection peut être soulevée contre toutes les méthodes qui ont utilisé des tests biologiques pour le dosage de l'acétylcholine. Le plus souvent, le produit décelé par la préparation biologique n'est pas l'acétylcholine. C'est ce que prouvent les expériences faites par Nachmansohn, D., Hestrin, S. et Voripaeff, H. (**200**). Ces auteurs ont fait agir, à l'étuve à 37° C, un système réunissant tous les éléments nécessaires à la synthèse de l'acétylcholine : une « choline-acétylase » extraite du cerveau de Lapin, du chlorure de choline, de l'acétate de sodium, de l'ATP, de la cystéine, un coenzyme extrait du foie de porc, des ions potassium, sodium, magnésium. Les produits de la réaction de synthèse de ce système sont éprouvés par des essais biologiques et les résultats sont confrontés avec ceux obtenus par une technique de dosage chimique de l'acétylcholine mise au point par Hestrin, S. (**105**) (réaction colorée des

radicaux — O — acycles avec l'hydroxylamine, en présence de chlorure ferrique, en pH alcalin).

Il existe une différence considérable entre les deux méthodes d'analyse : moins de la moitié de l'activité biologique totale des produits élaborés par ce mélange est représentée par l'acétylcholine standard, décelable par voie chimique. Le reste est indéterminé dans sa composition. Bien mieux, il n'est pas nécessaire d'ajouter du chlorure de choline dans le milieu réactionnel pour voir apparaître des produits doués d'une activité biologique.

Les conditions expérimentales dans lesquelles s'étaient placés ces auteurs étaient des plus favorables pour la synthèse de l'acétylcholine. Est-il nécessaire d'insister sur le fait qu'on ne les rencontre guère dans l'organisme vivant.

b) Etude de la production d'acétylcholine intracardiaque sous l'effet de la faradisation du nerf viscéral

L'inhibition observée sur le cœur d'*Helix pomatia*, au cours de la faradisation du nerf viscéral présente des analogies profondes avec les phénomènes vagaux des Vertébrés.

Si les expériences rapportées dans le chapitre précédent peuvent être contestées en tant qu'arguments opposés à l'extension éventuelle de la théorie cholinergique aux Gastéropodes Pulmonés, celles qui ont pour objet l'étude des variations quantitatives de la teneur du cœur en acétylcholine libre au cours de l'inhibition vagale, en s'inscrivant dans la ligne de celles entreprises par Loewi, O. chez les Vertébrés, échappent à cette critique.

1) *Technique*

Au cours de nos expériences sur le cœur d'*Helix pomatia* (**125**), le ventricule était monté *in situ* sur une canule de Straub et perfusé par voie interne au moyen de la solution physiologique habituelle (NaCl : 6,5 g; KCl : 0,14 g; $CaCl^2$: 0,12 g; eau distillée : q.s. pour 1 litre) ésérinée au 1/200.000 ou non ésérinée.

De cette façon, il arrive une partie de l'innervation cardiaque extrinsèque au ventricule par la voie de l'aorte. Le nerf viscéral est chargé sur une paire d'électrodes reliées au secondaire d'un chariot de Du Bois-Reymond, et soumis à des excitants d'intensité assez forte, de durées variables : courtes (15 secondes), moyennes (30 secondes) ou longues (60 secondes).

Les essais étaient répétés sur plusieurs cœurs afin d'obtenir une masse de myocarde et un volume de perfusats suffisants pour permettre des dosages biologiques par la méthode du muscle de Sangsue ésériné (volume minimum : 3 - 4 cm^3 de préparation biologique, broyat ou perfusat).

2) *Résultats*

Alors qu'au départ les cœurs du lot d'Escargots utilisés accusent une quantité « d'acétylcholine » comprise entre 0,3 et 0,5 µg par gramme d'organe, les dosages des cœurs d'animaux provenant du même lot, mais préalablement soumis à l'excitation faradique du nerf viscéral, donnaient les résultats suivants :

1) après des excitations courtes (15 secondes) : 7,5 µg/g;

2) après des excitations moyennes (30 secondes) : 8,7 µg/g;

3) après des excitations longues (60 secondes) : 8,4 µg/g.

Les perfusats recueillis à la suite des excitations correspondantes du nerf viscéral se sont toujours révélés très pauvres en substance active sur le muscle de Sangsue, voire totalement inefficaces sur ce test.

3) *Discussion*

Il ressort de ces expériences que des excitations de longue durée ne sont guère plus favorables à l'apparition d'une substance à effet-Sangsue intracardiaque, que des excitations de 15 secondes. Il semble donc que l'on obtienne d'emblée une libération maximale d'équivalent-acétylcholine dès les premiers instants de la faradisation du nerf viscéral.

Cette substance à effet-Sangsue ne diffuse donc que très difficilement hors du myocarde, alors que chez la Grenouille, comme l'aurait observé Loewi, O., la stimulation du pneumogastrique libérerait dans le liquide de perfusion des quantités suffisamment abondantes d'acétylcholine pour conférer au perfusat vagal des propriétés pharmacodynamiques particulières (1).

α) *Comparaison des effets de l'acétylcholine et de l'excitation du nerf viscéral sur le cœur de l'Escargot*

Si l'apparition de substance active sur le muscle de Sangsue au cours de l'inhibition cardiaque semble constituer un argument favorable à l'extension de la théorie cholinergique aux Invertébrés du groupe des Pulmonés, l'analogie entre action vagale et action de l'acétylcholine doit se retrouver dans tous les caractères de l'inhibition. En particulier, l'application d'acétylcholine sur le cœur au cours de la stimulation du nerf viscéral ne doit théoriquement pas entraîner de perturbations dans l'inhibition. Lorsque le cœur échappe à l'action vagale, l'application d'acétylcholine ne doit pas non plus perturber la reprise des contractions. Inversement, l'échappement à l'action de l'acétylcholine doit correspondre à l'échappement à l'action vagale.

A la fin de l'excitation du nerf viscéral, la teneur du myocarde, en équivalent-acétylcholine, est en moyenne de 8 µg par gramme de tissu, ce qui correspond à peu près à une solution d'acétylcholine standard à 8.000 µg par litre, soit une solution au 1/125.000.

Or des solutions d'acétylcholine dont les concentrations s'échelonnent entre 10^{-8} et 10^{-4}, appliquées en perfusion interne, arrêtent le cœur à un niveau tonique d'autant plus élevé que la solution est plus concentrée (**147**).

On laisse tomber sur le cœur *in situ* quelques gouttes d'une solution relativement concentrée d'acétylcholine (à 10^{-4} par exemple). Le cœur s'arrête rapide-

(1) A notre connaissance, les perfusats recueillis sur le cœur de Grenouille après excitation du pneumogastrique n'ont jamais donné de résultats positifs lors de leur application sur le muscle de Sangsue. L'expérience a cependant été réalisée avec succès chez le Chat par Feldberg et Krayer (**72**).

Dans un même ordre d'idée, le liquide provenant de la perfusion de l'estomac d'un Chien dont on excite le pneumogastrique s'est également révélé actif sur le muscle de Sangsue [Dale et Feldberg (**56**)].

ment en systole, à un niveau dépassant le niveau systolique normal. Par la suite, si on opère en absence d'ésérine, le tonus baisse lentement pour rejoindre progressivement le niveau de tonus diastolique normal. Pendant que s'inscrit cette courbe lentement descendante de tonus, on excite faradiquement le nerf viscéral; à chaque brève série d'excitations, il se produit une chute marquée du tonus, suivie d'une remontée immédiate lorsqu'on cesse l'excitation (fig. 13 et 14).

Bien que l'action paradoxale de l'acétylcholine concentrée sur le cœur de l'Escargot ne puisse guère laisser penser à une inhibition de type cholinergique, lors de l'excitation du nerf viscéral, nous supposerons quand même, provisoirement, que l'acétylcholine représente le médiateur cardio-inhibiteur des influx passant par le nerf cardiaque, puisque la méthode du muscle de Sangsue révèle la formation intramyocardique d'une substance active, pendant la faradisation du nerf.

Les chutes de tonus observées lors de l'excitation du nerf viscéral, pendant la lente descente tonique succédant à l'application d'acétylcholine ne sont pas dues à l'action de fibres cholinergiques; si des fibres de cette nature étaient seules mises en jeu, la quantité additionnelle d'acétylcholine qu'elles produisent ne pourrait que renforcer l'effet systolisant provoqué par l'acétylcholine initiale appliquée sur le cœur; par conséquent, il devrait y avoir, lors des excitations, remontée de la ligne tonique générale ou, tout au moins, maintien de celle-ci. Or c'est le phénomène inverse que l'on observe et il semble bien dû à des fibres spéciales, purement tonotropes, non cholinergiques. Leur action est puissante puisqu'elle annule l'effet tonotrope positif provoqué par l'acétylcholine initiale, renforcée par « l'acétylcholine » libérée au cours de l'excitation.

L'interprétation de ce phénomène s'explique donc aisément par l'hypothèse de la systématisation des fibres constituant le nerf viscéral, en fibres chronotropes négatives et en fibres tonotropes négatives.

En ce qui concerne ces dernières, l'effet tonotrope négatif, dont elles sont responsables sur un cœur systolisé par l'acétylcholine, constitue à lui seul un argument suffisant pour leur dénier un mécanisme cholinergique.

Quant aux fibres chronotropes, il serait possible de leur attribuer une action cholinergique, l'acétylcholine à faible dose pouvant inhiber les contractions cardiaques et amener l'arrêt de l'organe à un niveau tonique diastolique normal.

Cependant, la forte production de substance active sur le muscle de Sangsue, et assimilée à l'acétylcholine, n'est pas compatible avec la nature cholinergique de l'inhibition cardiaque chez l'Escargot, puisque, on l'a vu, l'acétylcholine standard inhibe le cœur en systole lorsqu'on l'utilise à des taux comparables à ceux qui existent dans le myocarde après une excitation du nerf viscéral.

De plus, lorsque le cœur échappe à l'action vagale, l'application d'une solution d'acétylcholine au 1/100.000 est encore capable de provoquer un nouvel arrêt de l'organe.

Réciproquement, lorsque le cœur, préalablement inhibé par application d'une solution d'acétylcholine, reprend ses contractions, l'excitation subséquente du nerf viscéral est toujours efficace.

En somme, même pour les fibres chronotropes négatives, l'acétylcholine (produit chimique) ne peut rendre compte des effets observés lors de l'inhibition.

β) *Rôle des excitations sous-liminaires*

Il reste donc à trouver la signification de la substance active sur le muscle de Sangsue, qui apparaît lors de la faradisation du nerf viscéral. Il est toujours possible d'affirmer *a priori* qu'elle n'est pas identique à l'acétylcholine, bien qu'active sur la préparation hirudinique. Néanmoins, il pourrait se faire qu'elle représentât un médiateur particulier, différent de celui proposé par Loewi, O.

Cependant, l'expérience suivante (**126**) montre qu'on ne peut songer accepter cette nouvelle hypothèse. En effet, après avoir déterminé, sur des animaux d'un lot donné, une intensité d'excitation sous-liminaire, c'est-à-dire n'entraînant pas de modifications d'amplitude ou de fréquence dans les contractions des cœurs, on applique à des Escargots neufs, provenant du même lot, l'excitant ainsi déterminé, pendant des durées de 15, 30 et 60 secondes. Au bout de ces délais, le cœur est rapidement prélevé, immergé dans du Ringer ésériné au 1/200.000 jusqu'à la fin des prélèvements. L'ensemble des organes est broyé et amené à un taux de dilution connu avant d'être appliqué sur le muscle de Sangsue ésériné.

Les dosages, pour une série d'essais, ont donné les résultats suivants : 2,2 µg; 3,8 µg; 1,8 µg; 1,6 µg et 2 µg d'équivalent-acétylcholine par gramme de tissu.

Il n'y a pas de proportionnalité rigoureuse entre les durées d'excitation et les taux de substance active déterminés, car les nerfs des différentes préparations ne sont pas également réceptifs au voltage uniforme qui leur est appliqué. En moyenne, la teneur dans le myocarde, après des excitations faibles, correspond à 2,2 µg de substance active, ce qui représente 5 fois la valeur du taux initial (0,4 µg par gramme de tissu). Or, cette concentration intramyocardique de substance active correspond à une solution d'acétylcholine standard au 5.10^{-5}, qui est déjà active en perfusion interne, sur le cœur d'Escargot, en provoquant notamment l'arrêt en systole signalé plus haut. Or dans nos conditions expérimentales, l'apparition, dans des délais relativement brefs, de telles quantités « d'acétylcholine » n'entraîne pas de modifications du rythme cardiaque.

γ) *Conclusions*

En résumé, si l'acétylcholine standard ne représente en aucune façon le médiateur des influx cardio-inhibiteurs chez l'Escargot, la substance néo-formée, active sur le muscle de Sangsue, qui apparaît dans le myocarde au cours de l'action vagale ne le représente pas non plus.

4) *Production « d'acétylcholine » par les différentes portions du cœur de l'Escargot*

Nous avons vu précédemment que les deux types de fibres constituant le nerf viscéral de l'Escargot ne se répartissaient pas de façon uniforme dans l'intimité du myocarde. En particulier, les fibres chronotropes négatives se rendent principalement à la pointe du ventricule en passant par le nerf ventriculaire, et à l'oreillette par la voie du nerf auriculaire. Quant aux fibres tonotropes négatives, elles empruntent, d'une part le nerf ventriculaire, pour innerver la base du ventricule uniquement, d'autre part, le nerf auriculaire pour innerver l'oreillette et la base du ventricule. Les fibres à destination ventriculaire qui passent par le nerf auriculaire franchissent donc le sillon auriculo-ventriculaire.

De sorte que l'on peut distinguer dans le cœur de l'Escargot trois zones distinctes, ayant chacune un type d'innervation particulier : l'oreillette, qui reçoit une innervation mixte (chronotrope et tonotrope négative) ; la base du ventricule qui est contrôlée par des fibres uniquement tonotropes négatives; enfin la pointe du ventricule qui, en raison de son rôle de *primum movens*, est innervée par des fibres chronotropes négatives.

Il était intéressant, devant une telle disposition anatomique de rechercher à quel type de fibres était dévolue la formation de la substance active sur le muscle de Sangsue, au cours de la faradisation du nerf.

Les expériences que nous avons menées (**232**, **234**, **235**) portaient sur des animaux d'automne, un ou deux mois avant l'hibernation (septembre-octobre).

α) *Technique*

Nous avons opéré sur des animaux, soit normaux, soit ésérinés au 1/200.000 une demi-heure avant l'expérience, après avoir vérifié que cette opération préliminaire n'introduisait pas de modifications dans la teneur normale du cœur en « acétylcholine ».

Le cœur est en place, entre ses deux feuillets péricardiques, le manteau, détaché de son insertion céphalo-pédieuse, étant étalé sur la gauche de l'animal. Avant de porter sur le nerf viscéral les excitations faradiques, nous poussions lentement, en direction du cœur, dans la veine pulmonaire, une injection de 5 à 10 cm^3 de Ringer pour éliminer toute trace d'hémolymphe.

Les excitations portées sur le nerf viscéral ont une durée uniforme de 45 secondes, temps largement suffisant pour libérer le maximum de substance active à l'intérieur du myocarde.

Aussitôt après excitation, le feuillet péricardique interne est incisé longitudinalement et le cœur, ainsi mis à nu, partagé en trois lambeaux : oreillette, base (moitié supérieure) et pointe (moitié distale) du ventricule.

Opérant sur des lots de 6 à 8 animaux, chaque portion d'organe recueillie est placée, en attendant la fin des prélèvements (durée totale 20-30 minutes), avec les portions homologues des autres cœurs dans un petit volume de liquide ésériné, qui sera ensuite utilisé pour constituer les broyats.

Chaque groupe de lambeaux cardiaques est pesé séparément, finement broyé et amené à un taux de dilution connu avant d'être appliqué sur le muscle de Sangsue.

Dans quelques cas, nous avons pratiqué l'extraction trichloracétique de l'acétylcholine tissulaire suivant la technique indiquée par CHANG, H.C. et GADDUM, J.H. (**50**) avant d'en faire le dosage sur le muscle de Sangsue.

β) *Résultats*

Perfusion au Ringer ordinaire, ésériné ou non

Normalement en dehors de toute excitation, on observe sur le cœur d'Escargot un gradient décroissant de l'oreillette vers la pointe du ventricule, de la teneur des diverses portions du cœur en « acétylcholine ». Les extraits trichloracétiques donnent des résultats parallèles à ceux obtenus par application des simples broyats, mais les chiffres trouvés sont légèrement plus élevés.

	Oreillette	Base	Pointe
Poids en g	0,058	0,117	0,090
équiv. AC. en µg/g			
broyats	0,36	0,22	0,10
extraits	0,61	0,36	0,35

Après excitation, on observe un remaniement, à l'intérieur du myocarde, dans la répartition de la substance à effet-Sangsue.

	Oreillette	Base	Pointe
Poids en g	0,060	0,121	0,109
équiv. AC. en µg/g			
broyats	0,24	0,21	0,31
extraits	0,54	0,50	0,54

Après excitation du nerf viscéral, la pointe se trouve toujours plus riche que les autres portions du cœur en substance active.

— *Remarque*

Ces chiffres correspondent à des enrichissements beaucoup moins marqués que lors des expériences menées sur des animaux de printemps. En effet, la teneur normale du cœur étant de 0,21 µg/g de tissu, l'excitation fait passer cette teneur à 0,27 µg/g.

Ce faible écart est vraisemblablement dû à la physiologie particulière des animaux en voie d'hibernation, car nous avons eu l'occasion de constater que l'excitation du nerf viscéral, en hiver, n'était pratiquement pas accompagnée de formation de substance à effet-Sangsue. Cependant, la deuxième décimale portée dans nos résultats ne correspond pas à une approximation fallacieuse mais traduit exactement les variations de teneur observées sur des broyats dilués au 1/10 ou au 1/50, donnant sur le muscle de Sangsue des contractions appréciables avec suffisamment de précision. C'est la conversion en µg par gramme de tissu frais qui introduit les deux décimales qui correspondent en réalité à des chiffres significatifs.

γ) *Conclusions*

En reportant sur un graphique (fig. 35) les résultats obtenus, on voit que l'excitation du nerf viscéral augmente la teneur de la pointe en acétylcholine, tandis que l'oreillette perd une partie de sa substance à effet-Sangsue. Cependant il semble qu'il faille imputer cette perte d'activité-Sangsue de l'oreillette à des erreurs inhérentes aux méthodes de dosage biologique et que, finalement, oreillette et pointe du ventricule sont également riches en « acétylcholine ». Dans ces conditions seules les fibres chronotropes négatives qui aboutissent dans ces lam-

beaux cardiaques, sont responsables de l'élaboration de la substance à effet-Sangsue. Les fibres tonotropes négatives, qui contrôlent la base du ventricule, laissent inchangée la teneur initiale en « acétylcholine » du territoire qu'elles innervent. Aussi est-il permis de penser qu'elles n'ont aucune influence sur les variations d'activité-Sangsue de l'oreillette qu'elles contrôlent également.

5) *Influence des ions Na^+, K^+ et Ca^{++} sur la libération d'équivalent-acétylcholine à l'intérieur du myocarde, au cours de la faradisation du nerf viscéral*

Au cours d'autres expériences (**235**), nous avons recherché l'influence des ions sur cette formation d'acétylcholine intramyocardique pendant l'excitation du nerf viscéral.

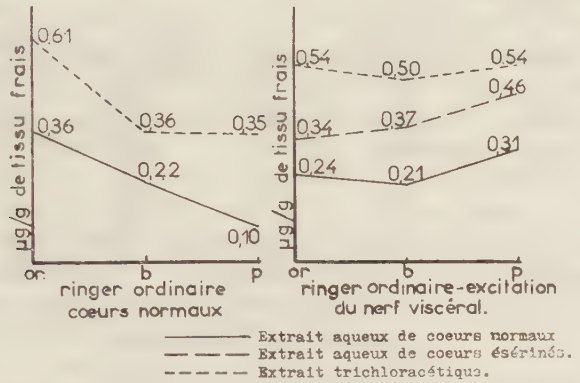

FIGURE 35. — Teneur des différentes parties du cœur d'*Helix pomatia*, en substance à effet-Sangsue, en dehors de toute excitation nerveuse (à gauche), et après faradisation du nerf viscéral (à droite).
or. oreillette.
b base du ventricule.
p pointe du ventricule.

α) *Technique*

Avant de porter sur ce dernier des séries de chocs d'induction, nous faisions passer dans le cœur une solution pure de NaCl, $CaCl^2$ ou de KCl isotonique au Ringer, que nous injections en amont, dans la veine pulmonaire, en laissant le cœur en contact au moins pendant 5 minutes avant toute intervention sur le nerf; la technique de prélèvement des cœurs était la même que précédemment.

β) *Résultats*

Perfusion du cœur avec une solution de NaCl isotonique au Ringer ordinaire

Après excitation du nerf viscéral, la teneur en acétylcholine de l'oreillette est toujours égale à celle de la pointe, tandis que celle de la base est sensiblement plus faible (fig. 36 à gauche). Il n'est pas possible d'apprécier quantitativement l'enrichissement relatif des diverses portions de cœur en raison des écarts existant, dès le début, entre les lots de cœur provenant d'animaux conservés dans des conditions identiques. La différence de teneur en acétylcholine entre la base et l'oreillette ou la pointe est comprise entre 0,6 et 0,7 µg/gramme, en ce qui concerne les extraits aqueux. Elle est un peu plus forte pour les extraits trichloracétiques.

— *Perfusion du cœur avec une solution de $CaCl^2$ isotonique au Ringer ordinaire.*

L'enrichissement des différentes portions du cœur, au cours de ces expériences (fig. 36 au milieu) semble être du même ordre de grandeur que celui observé en présence de NaCl seul. La présence d'ésérine ne semble pas jouer de rôle sensible sur la production de substance active au cours de la faradisation du nerf viscéral.

Nous avons représenté sur des graphiques les variations du taux d'acétylcholine tissulaire des diverses portions du cœur de l'Escargot, en portant en ordonnée, les quantités de produit trouvées pour 1 gramme d'organe frais, et en abscisse, les différentes portions de cœur dans leur ordre naturel : oreillette - base - pointe.

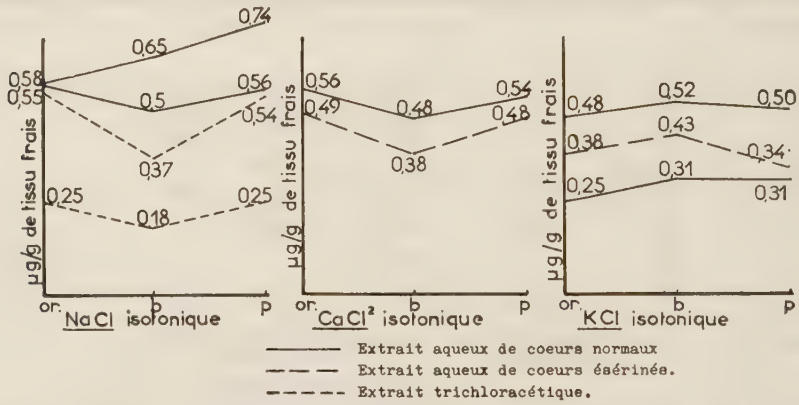

FIGURE 36. — Teneur des différentes portions du cœur de l'Escargot en équivalent-acétylcholine, après faradisation du nerf viscéral.

Influence des solutions de NaCl, KCl, $CaCl^2$, isotoniques au Ringer, sur l'enrichissement des différents lambeaux; *or* : oreillette; *b* : base; *p* : pointe.

— *Perfusion du cœur avec une solution de KCl isotonique au Ringer ordinaire*

L'enrichissement de la base semble représenter l'élément nouveau de cette expérience (fig. 36 à droite) alors que les taux de l'oreillette et de la pointe du ventricule n'atteignent pas les valeurs qu'ils avaient au cours des deux précédentes perfusions. Tout se passe comme si la production « d'acétylcholine » était inhibée par la présence de l'ion K^+.

γ) *Discussion : rôle éventuel des cholinestérases. Leur dosage*

Ces résultats pouvaient paraître paradoxaux à première vue; cependant, il convenait de considérer ces productions anormales d'acétylcholine, non plus isolément, mais dans leurs rapports avec les cholinestérases tissulaires qui sont modifiées dans leur activité par les ions.

Au cours de nos recherches sur l'enrichissement des diverses portions du cœur en « acétylcholine » par faradisation du nerf viscéral, l'importance des cholinestérases myocardiques nous était apparue de façon fortuite : des extraits de pointe ventriculaire, enrichis en « acétylcholine » par faradisation du nerf viscéral, ésérinés et conservés en glacière à 2° C, perdaient en 12 heures leur activité

Sangsue, alors que les témoins d'acétylcholine standard, placés dans les mêmes conditions, restaient pratiquement intacts. Ce qui prouve :

ou bien que la pointe du ventricule de l'Escargot est particulièrement riche en cholinestérases, de sorte que l'ésérine ajoutée à la solution n'arrive pas à bloquer la totalité des diastases;

ou bien que la substance active sur le muscle de Sangsue, mise en évidence précédemment n'est pas de l'acétylcholine. Dans ces conditions, le facteur qui préside à sa disparition de la préparation biologique peut ne pas être sensible à l'ésérine, et aux anticholinestérasiques en général.

Il pouvait donc être, *a priori*, intéressant d'essayer de doser l'activité hydrolytique des différentes parties du cœur sur l'acétylcholine standard.

On sait que la cholinestérase scinde la molécule d'acétylcholine en deux fragments : choline et acide acétique; ces deux produits sont pratiquement inactifs sur le muscle de Sangsue, tout au moins aux concentrations qui résultent de la scission de l'acétylcholine utilisée aux taux compatibles avec la sensibilité du test.

Ordinairement, un dosage consiste à comparer une grandeur quelconque à une grandeur de même nature prise comme étalon; cette dernière est toujours parfaitement définie au début de l'expérience; c'est ainsi que le dosage de l'acétylcholine d'une préparation biologique consiste dans la comparaison de l'activité Sangsue de ladite préparation à l'activité de solutions d'acétylcholine pure, contenant des quantités de produit exprimées en grammes ou fractions de grammes par litre. La préparation de ces solutions étalon implique nécessairement l'obtention, à l'état pur, du produit de référence.

Dans le cas du dosage des solutions de cholinestérases, on se heurte à un obstacle majeur : ces diastases n'ont jamais été purifiées, et le seraient-elles, qu'on pourrait se trouver en présence de substances inactives, l'activité diastasique étant souvent liée à la présence de certaines « impuretés » indispensables, mais dont le rôle est souvent méconnu.

Aussi, dans l'estimation de l'activité hydrolytique d'une préparation biologique, se contente-t-on souvent d'une appréciation qualitative, en exprimant les vitesses d'hydrolyse, soit par des variations de pH, soit des variations d'activité biologique d'une solution initiale d'acétylcholine de composition définie mise en présence de la préparation cholinestérasique. On ne cherche pas à rapporter l'hydrolyse à une quantité étalon de cholinestérase.

Parmi les différentes méthodes de dosage de l'activité cholinestérasique relevons :

— *une méthode titrimétrique.* L'acide acétique libéré par hydrolyse de l'acétylcholine, fait varier le pH du milieu réactionnel. L'action de la diastase est suivie de minute en minute par le nombre de centimètres cubes de soude centinormale qu'il faut ajouter au mélange de réaction pour maintenir son pH à une valeur constante, la température restant constante au cours de l'opération. Cette technique nécessite de très fortes concentrations initiales en acétylcholine pour que les variations de pH soient appréciables par les techniques usuelles. Comme indicateur de pH, on peut utiliser un réactif coloré [STEDMANN, E., STEDMANN, E. et EASON, L.H. **(242)**] ou mieux, l'électrode de verre [GLICK, D. **(90)**].

— *un méthode manométrique*, qui serait la plus sensible de toutes les méthodes actuelles. Le mélange réactif est placé dans une cellule de Warburg, en présence de bicarbonate. Le tout est maintenu à température constante. L'acide acétique libéré par hydrolyse enzymatique agit sur le bicarbonate, libérant de très petits volumes de CO^2 que l'on apprécie par déplacement de l'index liquide devant la graduation du manomètre.

Le quotient d'activité cholinestérasique Q (ACh) est exprimé en mm^3 de CO^2 par unité de temps et par unité de poids d'organe dont on cherche à estimer l'activité hydrolytique.

$$Q\ (ACh) \quad \frac{\text{Vol. } CO^2 \text{ en } mm^3}{\text{temps} \times \text{quantité de préparation enzymatique}}$$

— *une méthode biologique* qui consiste à estimer l'activité-Sangsue d'une solution d'acétylcholine, de titre initial connu, soumise à des contacts de durée variable avec la préparation cholinestérasique.

L'unité d'activité cholinestérasique est estimée, de façon générale, par la vitesse moyenne d'hydrolyse des esters de la choline pendant des temps arbitrairement choisis.

Galehr, O. et Plattner, F. (**85**) comparent l'activité enzymatique de deux préparations en dosant, par la méthode biologique, l'acétylcholine restante après une action cholinestérasique de 20 minutes.

Plattner, F. et Hinter, H. (**210**) mesurent l'activité hydrolytique par le temps nécessaire pour obtenir l'hydrolyse de 50 % de l'acétylcholine mise en présence de la préparation diastasique.

Vincent, D. et Jullien, A. (**255**) procèdent de la façon suivante : l'extrait d'organe, obtenu par broyage en Ringer ordinaire, est dilué progressivement dans une solution d'acétylcholine établie dans du Ringer ordinaire, au taux uniforme de 10^{-7}. Après un temps donné (24 heures) de contact, à température fixe (37° C) les différentes dilutions d'organe sont testées au muscle de Sangsue préparé suivant la méthode de Fühner-Minz. On recherche la dilution d'organe pour laquelle le muscle répond par une contraction appréciable, ce qui indique que l'hydrolyse n'est plus complète. Les auteurs estiment l'activité cholinestérasique par l'inverse de la concentration limite d'organe qui a entièrement hydrolysé l'acétylcholine.

Plus récemment, Arragon, G. et Sala, E. (**8**) ont préconisé la détermination de l'activité hydrolytique par la mesure de la pente à l'origine de la courbe d'hydrolyse établie en fonction du temps.

— *Activités cholinestérasiques normales des différentes portions du cœur*

Dans nos recherches (**233**) sur l'activité cholinestérasique des différentes portions du myocarde de l'Escargot, nous nous sommes contenté d'établir, par la méthode biologique, la courbe d'hydrolyse d'une solution donnée d'acétylcholine par une suspension d'organe, de titre connu, et constant pendant toute la durée de l'expérience. L'activité estérasique de chaque partie de myocarde est estimée qualitativement sur courbe.

— *Technique*

Dans 22,5 cm^3 d'une solution d'acétylcholine à 10^{-4} dans du Ringer ordinaire — soit 1.000 µg/litre — on ajoute 2,5 cm^3 de broyat d'organe à 1/100 dans du Ringer non ésériné. Le mélange réactif comprend donc de l'acétylcholine à 900 µg/litre, et du broyat d'organe au 1/1.000.

A chaque demi-heure, en début d'expérience, puis à chaque heure, on prélève des échantillons de 3 cm^3 dans cette solution. et on en bloque les estérases en y laissant tomber 2 gouttes d'une solution concentrée (1/2.000) d'ésérine.

L'activité de l'acétylcholine non détruite est appréciée par la méthode biologique.

Les courbes d'hydrolyse sont établies en portant en abscisse les temps et en ordonnée les quantités résiduelles d'acétylcholine exprimées en µg/litre.

— *Résultats*

Pour les broyats d'organe, agissant en Ringer ordinaire, l'activité cholinestérasique est beaucoup plus intense au niveau de l'oreillette et de la pointe du ventricule qu'au niveau de la base du ventricule.

Les résultats, consignés dans le tableau suivant, et traduits sur une courbe (fig. 37) expriment nettement cette constatation.

	Ringer ordinaire oreillette	base	pointe
	—	—	—
1/2 heure	72	128	75,2
1 heure	42,4	100	64
2 heures	32	118,4	26,4
3 heures	13,2	104	12,4
4 heures	13,2	112	10,8

Le témoin, au cours de ces mêmes délais, ne présentait qu'une très faible hydrolyse spontanée (900 µg - 850 µg par litre) à la température sensiblement constante respectée au cours de toute la durée de l'expérience (20° C).

Ces chiffres permettent de constater que seule la base a une activité cholinestérasique relativement peu intense. L'oreillette serait un peu plus active que la pointe, mais aux erreurs expérimentales près, on peut considérer leur activité cholinestérasique respective comme identiques entr'elles. Il est à remarquer que ces deux étages cardiaques sont les seuls à recevoir une innervation chronotrope négative. Ce résultat est conforme aux données de ANTOP, W., GLAUBACH, S. et GLICK, D. (**7**) qui, chez le Lapin, trouvent que le taux des cholinestérases intracardiaques est plus élevé au niveau des oreillettes qu'au niveau des ventricules. Dans la mesure où le contrôle auriculaire est un contrôle chronotrope négatif, il y aurait donc relation étroite entre fibres chronotropes négatives et cholinestérases.

De plus, il semble qu'au bout de 2 heures d'action, la réaction d'hydrolyse enzymatique prenne fin spontanément, ce qui se traduit par un palier horizontal

pour les trois mélanges réactifs. L'expérience prolongée au-delà de 6 heures confirme cette donnée.

La différence d'effet-Sangsue existant, en fin d'expérience, entre les solutions de la pointe ou de l'oreillette, et la solution de la base, ne peut pas être attribuée à d'autres produits que l'acétylcholine résiduelle, non atteinte par l'hydrolyse enzymatique.

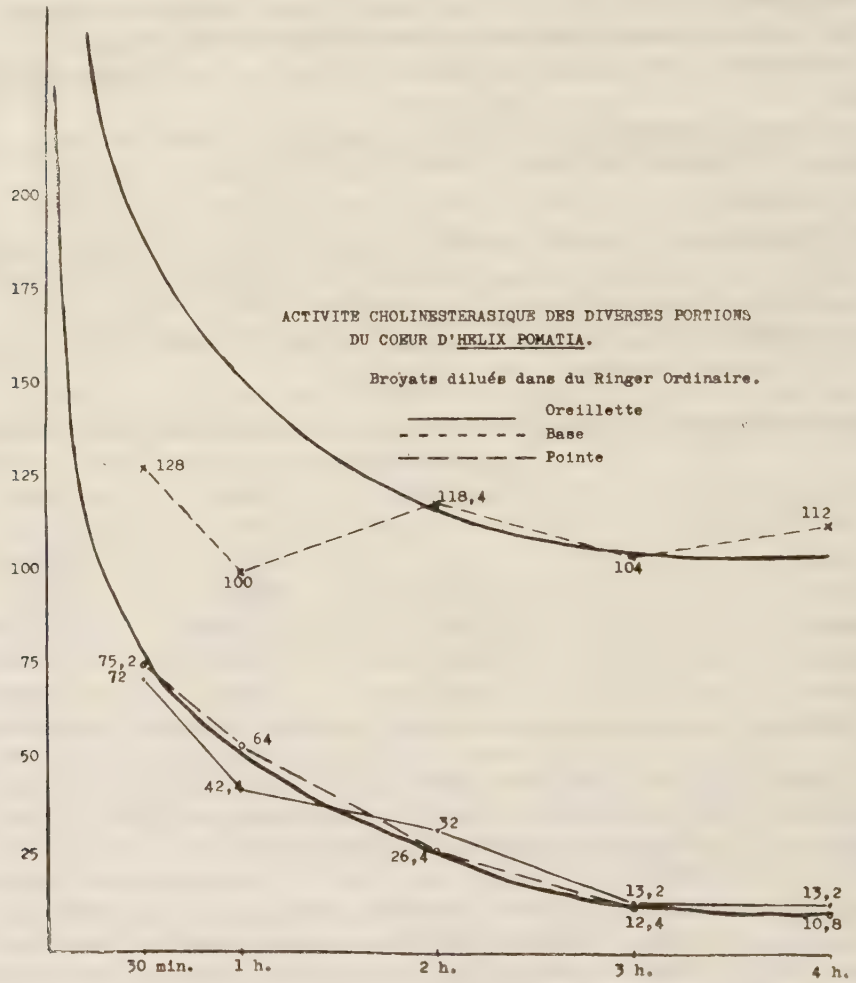

FIGURE 37. — Variations, en fonction du temps, de l'effet-Sangsue restant d'une solution d'acétylcholine (900 µg/l) mise en présence de broyats d'oreillette, de base et de pointe de cœur d'Escargot.

Il semble donc que les cholinestérases perdent rapidement leur activité après avoir scindé un certain nombre de molécules d'acétylcholine.

— *Influence des ions sur l'activité des cholinestérases cardiaques*

Les recherches de MENDEL, B., MUNDELL, D. et STRELITZ, F. (**183**),

MENDEL, B. et RUDNEY, H. (**184, 185**), NACHMANSOHN, D. (**199**) ont montré l'influence des ions mono- et divalents sur l'activité des cholinestérases vraies (*true cholinesterase*). Les ions Ca^{++} et Mg^{++} seraient des activateurs tandis que K^{+} serait un inhibiteur de l'action diastasique.

La technique que nous avons utilisée pour étudier l'action des ions sur l'activité cholinestérasique des diverses portions cardiaques est en tous points semblable (**234**) à celle qui vient d'être exposée, relative à la détermination de l'activité cholinestérasique des lambeaux myocardiques en présence de Ringer ordinaire, à la différence près que le Ringer était partout remplacé par une solution isotonique ne contenant, en principe, qu'un seul chlorure. En effet, au cours du dosage sur le muscle de Sangsue, si la solution de NaCl pur isotonique au Ringer ordinaire peut être appliquée sans dommages sur le test, il n'en est pas de même pour celles de $CaCl^2$ et KCl qui modifient profondément sa sensibilité. Aussi l'action de ces ions doit-elle être contrebalancée par celle des ions antagonistes avant que le mélange ne soit éprouvé sur le muscle de Sangsue.

— *Influence du NaCl en solution isotonique au Ringer, sur l'activité estérasique des diverses portions du cœur de l'Escargot*

Les solutions étalons d'acétylcholine standard, sont établies dans une solution de NaCl isotonique au Ringer et sont appliquées telles sur le muscle de Sangsue. De sorte que le muscle ne subit que des variations de concentrations en acétylcholine et non des variations concommittantes de la composition du liquide physiologique.

Les résultats, exprimés dans le tableau suivant et reportés sur une courbe (fig. 38) indiquent que les activités estérasiques de la pointe et de l'oreillette sont sensiblement identiques à celles observées en milieu physiologique normal (Ringer ordinaire).

Quant à la base, il semble que son activité hydrolytique soit nettement accrue en présence de ce sel.

	NaCl isotonique au Ringer ordinaire		
	oreillette	base	pointe
	—	—	—
1/2 heure	80	192	91,2
1 heure	34,4	68,8	50
2 heures	16	76,8	22,4
3 heures	11,6	73,6	11,6

— *Action du $CaCl^2$ sur l'activité estérasique des diverses portions du cœur*

Dans cette série de recherches, nous n'avons pas pu utiliser sans précautions particulières, comme nous l'avions fait pour NaCl, le chlorure de calcium isotonique au Ringer ordinaire en application immédiate sur le muscle de Sangsue. En effet, une telle solution, appliquée sur la préparation biologique, entraîne un relâchement très marqué des fibres musculaires, et la sensibilité du test s'en trouve fortement diminuée, sinon totalement abolie.

— *Technique*

Plusieurs techniques sont possibles pour contourner cette difficulté.

On peut laisser l'hydrolyse enzymatique s'accomplir dans la solution pure de $CaCl^2$ isotonique au Ringer ordinaire.

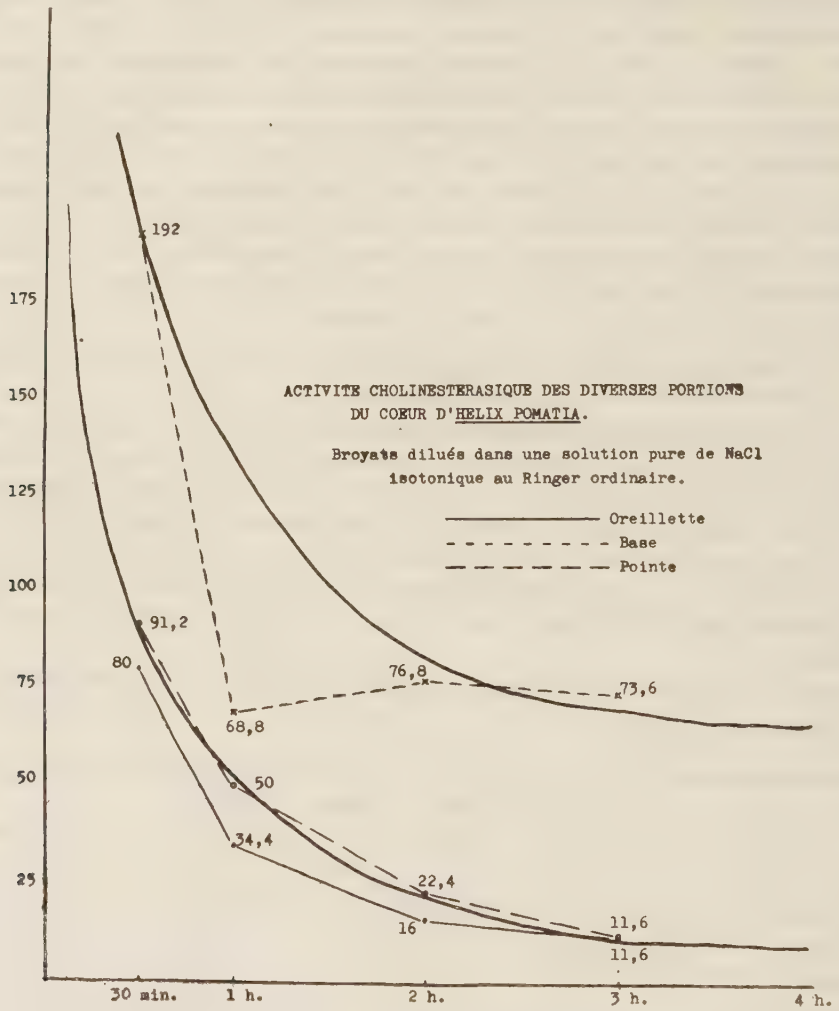

FIGURE 38. — Action de NaCl en solution isotonique au RINGER ordinaire sur l'activité cholinestérasique des différentes portions du cœur de l'Escargot.

On prélève des échantillons de 3 cm^3 dans le milieu réactionnel au bout de chaque demi-heure ou de chaque heure, et on bloque les réactions fermentaires de chaque prise en y laissant tomber 2 gouttes d'ésérine au 1/2.000.

Cette solution calcique servira à recomposer, avec des solutions de NaCl et KCl, un liquide physiologique de même composition que le Ringer, qui sera appliqué sur le muscle de Sangsue.

En opérant avec des solutions isotoniques au Ringer, la chose est aisée. Dans le liquide de Ringer normal, le rapport des alcalins aux alcalino-terreux est de A/AT = 112, et des alcalins entre eux Na/K = 60 (le calcium est le seul alcalino-terreux utilisé). A 60 cm³ de solution isotonique de NaCl, on ajoute 1 cm³ de KCl isotonique. Cette nouvelle solution répond à la condition Na/K = 60. A ce mélange on ajoute $CaCl^2$ isotonique (mélange réactionnel stabilisé par l'ésérine) au taux de 1 cm³ de solution calcique pour 112 cm³ du mélange.

L'acétylcholine résiduelle, au cours de cette recomposition du Ringer se trouve diluée en même temps que le chlorure de calcium, et dans les mêmes proportions.

Pour que la solution finale ait une richesse en acétylcholine comparable à celle des solutions de NaCl pures (cas précédent), et surtout pour éviter une trop grande dilution de l'acétylcholine résiduelle, on peut songer à augmenter de 112 fois la concentration en acétylcholine du mélange réactionnel initial. Mais, pour respecter les proportions d'enzyme et de substrat, il faudrait également augmenter de 112 fois la teneur du mélange initial : ce qui nécessiterait une consommation considérable d'animaux.

Nous avons préféré la méthode suivante : connaissant l'action du chlorure de sodium isolé sur les estérases, on peut déduire l'action d'un ion donné en comparant les courbes d'hydrolyse de l'acétylcholine, obtenues d'une part avec la solution pure de NaCl, et d'autre part, avec un mélange, en proportion connue, de NaCl et de chlorure de cation considéré.

Le mélange de NaCl et de $CaCl^2$ était tel que ce dernier sel s'y trouvait à une concentration 10 fois supérieure à celle qui est la sienne dans le Ringer ordinaire.

Cette solution sodico-calcique a un avantage : appliquée directement sur le muscle de Sangsue, elle n'en modifie pas sensiblement les propriétés; en tous cas, le muscle réagit normalement à l'acétylcholine; les solutions-étalon sont également constituées dans cette même solution, comme dans les cas de solutions de NaCl pur.

— *Résultats*

Ces recherches confirment les conclusions de MENDEL, B., MUNDELL, D. et STRELITZ, F. (**183**) sur l'activation des estérases par l'ion Ca^{++}. Les courbes (fig. 39) et le tableau suivant, montrent le sens des variations de l'activité hydrolytique des diverses portions de myocarde.

Solution Na/K = ∞ ; A/AT = 11, isotonique au Ringer ordinaire	Oreillette	Base	Pointe
1/2 heure	80	249,6	81,6
1 heure	59,2	512 (?)	59,2
2 heures	4,4	129,6	41,6
4 heures	0,8	22,4	0,8

— *Action des ions K^+ sur l'activité estérasique des diverses portions du cœur*

Il ne nous a pas été possible de vérifier matériellement par une technique semblable à la précédente, l'action des ions K^+ sur les cholinestérases. Cependant, en comparant les courbes d'hydrolyse obtenues en Ringer ordinaire et en milieu

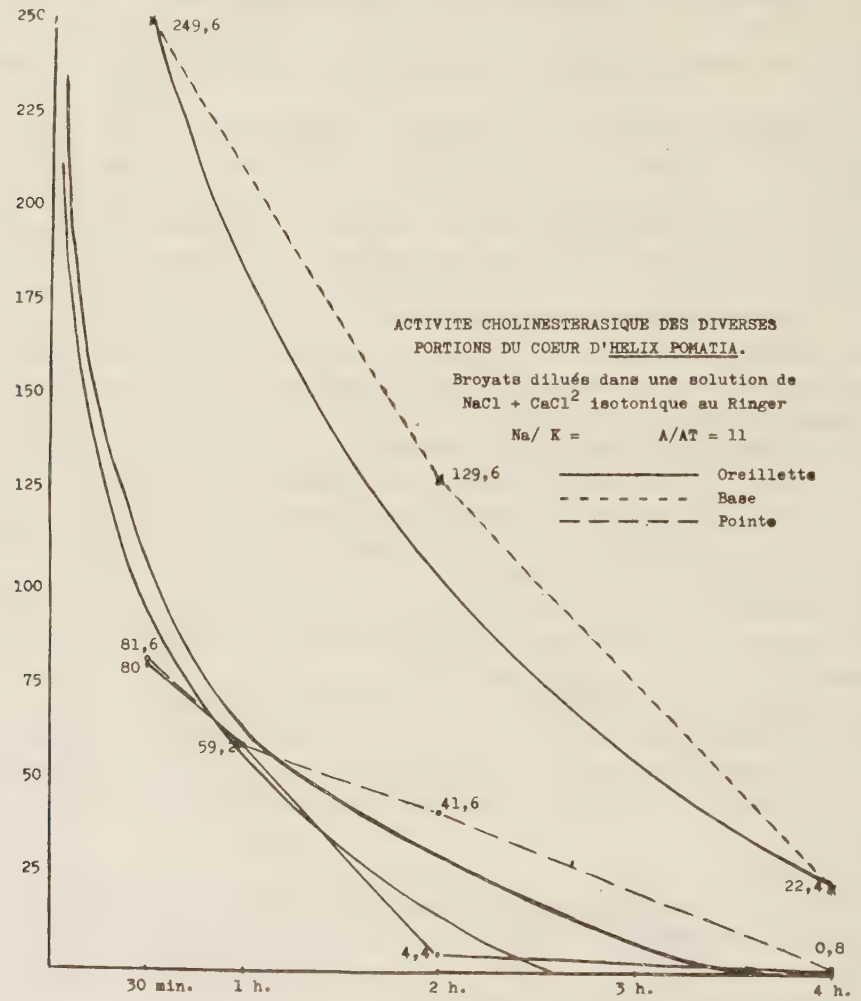

FIGURE 39. — Action du $CaCl^2$ sur l'activité cholinestérasique des différentes portions du cœur de l'Escargot.
Solution $Na/K = \infty$ et $A/AT = 11$.

$A/AT = 11$, $Na/K = \infty$ (pas de potassium), on constate que l'activité enzymatique des différentes portions du cœur, et en particulier de la base, est plus ou moins inhibée par la présence de potassium.

— *Discussion*

On retrouve donc, au niveau des cholinestérases tissulaires du cœur de l'Escargot, l'antagonisme Ca^{++} - K^+.

En reportant sur un même graphique les courbes relatives à une même portion d'organe placée dans des conditions expérimentales différentes, on constate que pour les trois lambeaux considérés, le calcium augmente l'activité hydrolytique vis-à-vis de l'acétylcholine. Cet accroissement semble dû à un déplacement de l'équilibre final existant entre l'acétylcholine et ses produits de décomposition.

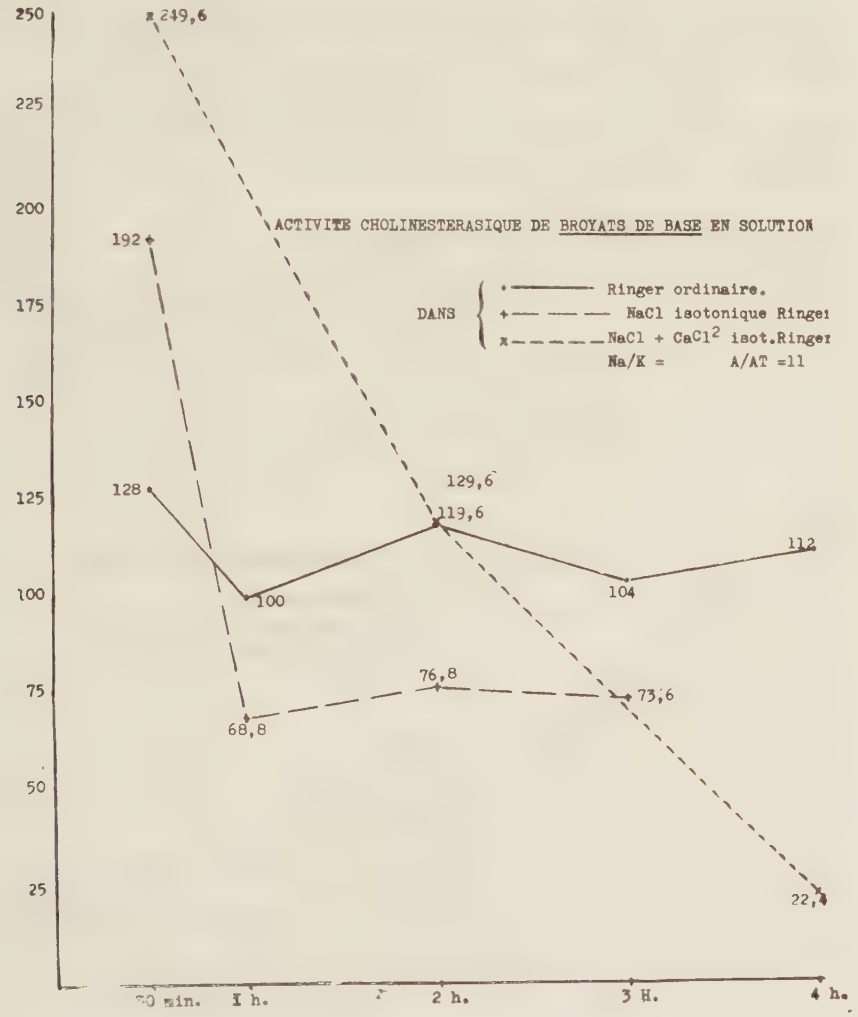

FIGURE 40. — Comparaison de l'activité hydrolytique de la base vis-à-vis de l'acétylcholine, en présence des ions Na+, Ca++ et en présence de Ringer ordinaire.

Le cas est particulièrement visible sur la base (fig. 40). Pour l'oreillette (fig. 41) et pour la pointe (fig. 42) le phénomène est moins évident; des concentrations d'organe plus faibles que celles utilisées dans les expériences actuelles, permettront de préciser ce point.

En ce qui concerne l'ion K^+, il semble nettement inhiber l'hydrolyse enzymatique de l'acétylcholine. De plus, l'équilibre final entre le substrat et les produits d'hydrolyse semble déplacé dans le sens d'une diminution du pourcentage d'acétylcholine détruite. Cette action inhibitrice du potassium est surtout marquée

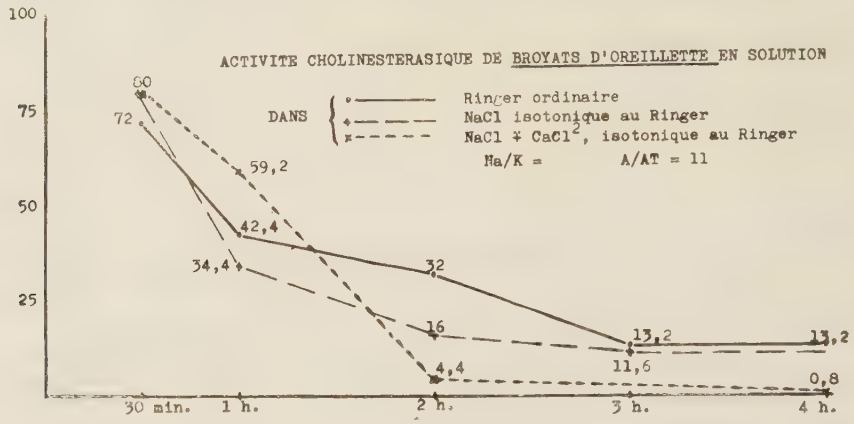

FIGURE 41. — Variations de l'activité cholinestérasique de l'oreillette en présence des ions Na+, Ca++ et en présence de Ringer ordinaire.

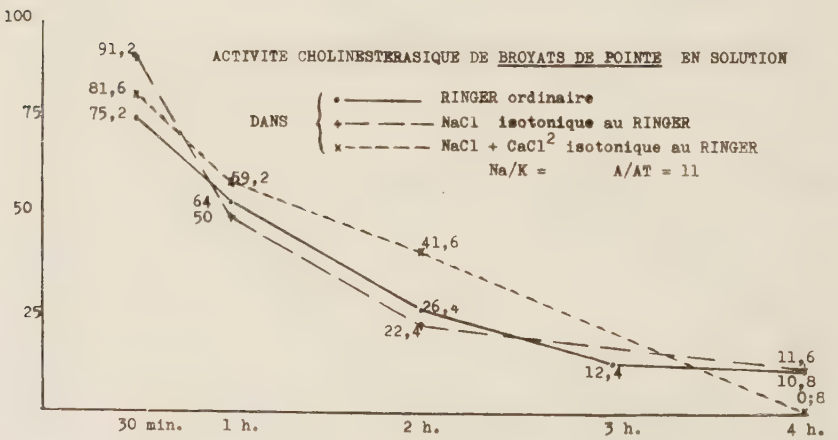

FIGURE 42. — Variations de l'activité cholinestérasique de la pointe du ventricule de l'Escargot, en présence des ions Na+, Ca++ et en présence de Ringer ordinaire.

au niveau de la base. Son action est moins sensible pour la pointe et pour l'oreillette.

Dans la solution de Ringer, — mélange des trois sels — l'action du potassium est dominante au niveau de la base, tandis que pour les autres lambeaux cardiaques, l'action inhibitrice de cet ion est compensée par l'action favorisante du Ca^{++}.

d) Conclusions

La comparaison de l'activité respective des différents ions, d'une part sur la production intracardiaque d'acétylcholine au cours de la faradisation du nerf viscéral, d'autre part sur l'activité hydrolytique des cholinestérases tissulaires ne permet pas d'établir de relations étroites entre production « d'acétylcholine » et activité cholinestérasique.

En effet, sous l'influence de $CaCl^2$, l'activation des cholinestérases devrait entraîner une destruction accrue de « l'acétylcholine » formée. Or c'est l'inverse que l'on observe : à une activité accrue des cholinestérases correspond une production supplémentaire d'acétylcholine.

Par contre, KCl qui inhibe l'activité hydrolysante des tissus et devrait ainsi permettre une production accrue « d'acétylcholine » tissulaire, s'oppose à sa formation.

Aussi, la coexistence, au sein du même tissu, de l'acétylcholine et de cholinestérases semble constituer ici une coïncidence et ne permet pas de penser que la théorie de Loewi, O. soit valable pour les Pulmonés.

E. — *RECHERCHES SUR L'EVENTUALITE D'UNE TRANSMISSION CHIMIQUE DES INFLUX CARDIO-INHIBITEURS CHEZ L'ESCARGOT*

Les recherches exposées plus haut, relatives à l'éventualité d'une médiation cholinergique chez l'Escargot, se sont soldées par un échec : il n'est pas possible d'assimiler « l'équivalent-acétylcholine » tissulaire, décelé après stimulation du nerf viscéral, à l'acétylcholine standard.

D'autre part, la cholinestérase myocardique a une répartition qui n'a rien de commun avec celle de l'acétylcholine, ce qui soulève déjà une objection fonctionnelle envers ces deux produits.

Enfin, l'action des ions sur les cholinestérases ne rend nullement compte de la formation de l'équivalent-acétylcholine par le cœur en expérience, ce qui dissocie nettement les rôles respectifs de ces deux substances, car, dans nos conditions expérimentales, les ions qui augmentent l'activité cholinestérasique devraient, pour cette raison, entraîner une diminution de la production de « l'acétylcholine figurée », celle-ci étant détruite à mesure de son apparition par un ferment beaucoup plus actif que dans les conditions normales.

Cependant, avant de condamner la théorie de LOEWI, O. chez l'Escargot, il convenait de préciser quelques points relatifs aux modalités de l'action du nerf sur le cœur.

L'acétylcholine n'est pas le médiateur, mais les expériences mettent en évidence l'apparition, lors de l'excitation du nerf viscéral, d'une substance active sur le muscle de Sangsue, dans l'intimité du myocarde. Celle-ci représente-t-elle l'intermédiaire chimique des influx nerveux cardio-inhibiteurs?

Dans l'esprit de LOEWI, O., toute médiation chimique entre terminaisons nerveuses et cellules cardiaques s'accompagne de la diffusion d'une fraction importante du médiateur vers le milieu de perfusion.

Nous avons signalé précédemment que les perfusats recueillis sur des cœurs soumis à l'influence du nerf viscéral, étaient totalement inactifs sur le muscle de Sangsue. En éliminant l'acétylcholine comme médiateur possible, l'hypothèse d'une médiation chimique, non cholinergique, n'en reste pas moins défendable, et l'absence d'effet-Sangsue dans les perfusats peut fort bien s'expliquer de la façon suivante : le médiateur qui apparaît dans le myocarde de l'Escargot après stimulation du nerf, pris à concentration égale, a une activité Sangsue beaucoup plus faible que l'acétylcholine. Seule sa forte concentration dans le muscle cardiaque est responsable de la contraction du muscle; la fraction qui diffuse dans le perfusat est portée à une dilution qui est inefficace sur le muscle de Sangsue, mais pourrait être active sur un autre test, en l'occurrence sur un cœur d'Escargot pris comme témoin.

Les expériences que nous allons exposer, sont la répétition, sur le ventricule de l'Escargot, des expériences de LOEWI, O. pratiquées chez la Grenouille et chez le Crapaud.

I. — TECHNIQUE

Le dispositif expérimental a été décrit : l'animal est fixé en extension, le manteau, détaché au niveau du bourrelet, est étalé sur le côté gauche, et le nerf viscéral est mis à nu. Le feuillet péricardique interne est fendu longitudinalement. Par une incision pratiquée dans l'oreillette, l'extrémité olivée d'une canule de Straub est poussée dans la cavité ventriculaire en passant par le détroit auriculo-ventriculaire et maintenue en place par une ligature, posée sur le lambeau auriculaire, juste au-dessus du sillon auriculo-ventriculaire. La canule est fixée en position inclinée sur un bloc de pâte à modeler. La pince serre-fine du stylet enregistreur, posée sur la portie moyenne du ventricule, ne mord que sur la couche la plus superficielle de l'organe, pour ne pas perturber son fonctionnement et ne pas déchirer ses tissus.

Pendant toute la durée de l'expérience, le cœur travaille contre une colonne de liquide de hauteur constante obtenue par l'introduction de 1,5 cm^3 de Ringer ordinaire, *non ésériné*, dans le réservoir de la canule.

II. — RÉSULTATS

En début d'expérience, ce liquide est renouvelé rapidement plusieurs fois de suite pour éliminer toute trace d'hémolymphe, et on attend que le régime du cœur se stabilise avant de commencer l'expérience proprement dite.

Lorsque l'amplitude des contractions reste constante, ce qui traduit l'adaptation du myocarde à ses nouvelles conditions de fonctionnement, le contenu de la canule est remplacé par un volume de Ringer qui servira de liquide témoin, c'est-à-dire que ce liquide restera en contact avec la face interne du ventricule pendant une durée égale à 30 secondes par exemple.

Ce liquide témoin recueilli est remplacé à son tour par un volume égal de Ringer frais; on porte alors une excitation (préalablement reconnue efficace), sur le nerf viscéral.

D'une façon générale, l'effet obtenu sur le cardiogramme est un renforcement de l'amplitude des contractions; cet effet inotrope positif peut s'établir après une phase transitoire de systolisation de l'organe, très brève, ou peut s'établir d'emblée. Dans le premier cas, on obtient une figure que nous avons appelée « clocher » (fig. 43) tandis que dans le deuxième cas, l'amplitude des toutes premières systoles est légèrement plus grande que celle des suivantes.

Le tonus diastolique ne varie pas; la fréquence reste inchangée. L'amplitude

des contractions se stabilise très rapidement et se maintient constante pendant toute la durée de l'excitation.

Ce « liquide vagal » est recueilli à son tour, ainsi que les liquides de lavage successifs obtenus après des séjours de 30 secondes dans le réservoir de la canule.

Le ventricule ne revient pas tout de suite à son amplitude initiale lors du retour au Ringer normal. Plusieurs lavages sont nécessaires pour cela; et à chaque renouvellement du liquide de perfusion, l'amplitude des systoles ventriculaires décroît immédiatement d'une certaine quantité et se stabilise à une nouvelle hauteur.

Lorsque l'amplitude des contractions est revenue sensiblement à sa valeur initiale, on introduit tour à tour dans le réservoir de la canule, liquide témoin, liquide vagal et liquides de lavage.

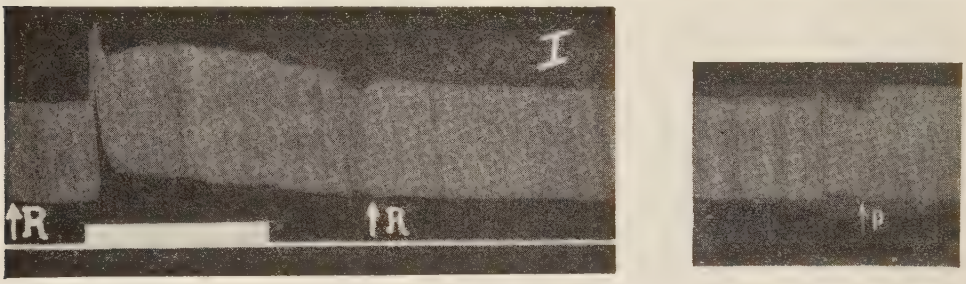

FIGURE 43. — Influence de la faradisation du nerf viscéral sur l'automatisme d'un ventricule monté sur canule de Straub et perfusé par une solution physiologique (Ringer).
En I, à gauche : rythme normal (R), puis excitation du nerf viscéral.
En II, à gauche : Ringer (R); à droite : action du perfusat (P), recueilli en I après faradisation du nerf viscéral.

Le liquide témoin est sans effets.

Le liquide vagal, par contre, bien qu'inefficace sur le muscle de Sangsue (**125**), produit un effet inotrope positif très marqué dès le début de son application. Quelquefois même, il est possible de noter un léger « clocher ». L'amplitude des contractions atteint celle des systoles de la période d'excitation.

En revenant au Ringer normal, on constate que l'effet inotrope déclenché par ce liquide vagal se prolonge (comme les effets de l'excitation) pendant un temps assez long, et ne cède qu'à la suite de la répétition des lavages.

Enfin, les liquides de lavage recueillis après la période d'excitation sont inactifs en général, sauf le premier qui peut quelquefois avoir un léger effet inotrope positif.

Dans toutes ces expériences, il est à noter que nous n'avons jamais obtenu d'effets chronotropes négatifs sur le cœur témoin.

Quelle que soit l'origine et la signification de l'effet inotrope positif noté au cours de l'excitation du nerf viscéral, il est indubitable que le liquide vagal s'est chargé d'une substance qui est capable de reproduire, sur le cœur maintenu dans des conditions identiques à celles qui régnaient pendant l'excitation, les effets de

la faradisation du nerf viscéral, à savoir, l'augmentation de l'amplitude des contractions.

L'action du liquide vagal répète en tous points les effets du nerf viscéral, sur le myocarde soumis à une tension liquidienne.

La notion de médiation chimique semble avoir ici toute sa force.

Cependant l'examen plus attentif du phénomène mentionné fait ressortir des éléments nouveaux qui vont à l'encontre de cette hypothèse.

III. — Discussion

a) *Rôle du test dans la mise en évidence de l'action inotrope positive du perfusat.*

Si, au lieu d'utiliser le cœur donneur comme test d'épreuve des perfusats recueillis, on monte sur canule de Straub, un cœur frais, soit *in situ*, soit isolé, les résultats obtenus sont beaucoup moins nets, sinon totalement négatifs. Pourtant les liquides vagaux sont efficaces, ainsi qu'on peut le constater en les appliquant sur le cœur donneur.

Il n'est nullement question d'invoquer, pour expliquer ce phénomène, une spécificité individuelle des Escargots vis-à-vis d'une substance qu'ils ont élaborée.

En effet, l'efficacité du liquide vagal reparaît au niveau du cœur témoin lorsque lui-même a servi comme donneur, ou lorsqu'il a été perfusé pendant une trentaine de minutes par du liquide physiologique ordinaire.

Cette condition préalable n'est pas sans analogies avec celle posée par Loewi, O. (**165**), pour bien mettre en évidence les effets vagaux des perfusats; selon cet auteur, l'organe réagit beaucoup mieux au liquide vagal lorsqu'il est rendu « hypodyname » par des lavages répétés.

La signification de la « substance vagale » mise en évidence au cours des expériences préliminaires, n'est donc plus du tout celle d'un médiateur chimique qui lui, théoriquement, conserve son activité pharmacodynamique quel que soit l'état fonctionnel du cœur.

b) *Nombre de « liquides vagaux » élaborés par un même cœur, au cours de faradisations répétées du nerf viscéral.*

La répétition des excitations du nerf viscéral provoque à chaque fois une nouvelle libération de « substance vagale » dans le liquide de perfusion que l'on a soin de renouveler entre chaque stimulation. Les essais des différents perfusats recueillis sur un cœur témoin « préparé », montrent que leur richesse en substance inotrope positive décroît assez rapidement; en général, on note une disparition de l'effet inotrope à partir du 5^{e} ou 6^{e} perfusat.

Cet épuisement du cœur n'est que momentané; si on laisse la préparation au repos pendant 1 à 2 heures, on peut à nouveau obtenir un perfusat actif après faradisation du nerf, mais son efficacité est faible, et le cœur n'est pas capable d'en donner un second.

Cependant, la pauvreté croissante des perfusats en substance vagale ne va pas de pair avec une inefficacité croissante du nerf sur l'automatisme cardiaque. Alors que les perfusats recueillis au-delà des 5e ou 6e sont sans effets sur un cœur témoin, les excitations du nerf viscéral sont toujours suivies d'un effet en « clocher », fugitif, mais très net. L'effet inotrope positif fait généralement défaut.

Cette deuxième série d'expériences met donc en évidence les faits suivants.

Le « clocher » qui apparaît au début de l'excitation représente une réaction fugitive du myocarde à la stimulation du nerf viscéral. Ce phénomène, est généralement associé à l'action inotrope positive d'une substance qui diffuse dans le milieu de perfusion en quantité importante, au moment d'une première excitation. Le « clocher » peut être dissocié de l'effet inotrope positif en renouvelant le liquide de perfusion de cœurs soumis à des excitations répétées du nerf viscéral : l'apparition du « clocher » qui traduit l'efficacité du nerf viscéral sur le cœur, n'est pourtant pas suivie de la libération d'un médiateur.

Cette constatation va à l'encontre d'un des corollaires qu'implique la théorie des médiateurs. Tandis que l'hypothèse de Loewi, O. postule une discontinuité entre nerf et myocarde, discontinuité qui est comblée par un « médiateur chimique », nos expériences seraient en faveur d'une continuité structurale, puisque l'action nerveuse persiste, malgré l'absence d'élaboration de substance vagale dans le liquide de perfusion.

La substance dite « vagale », élaborée au cours de la faradisation du nerf, est une substance inotrope positive par ses effets, dont la raison d'être sera précisée ultérieurement.

c) *Enrichissement de perfusats en substance inotrope positive par passages successifs dans des cœurs donneurs différents*

Dans cette série, nous avons cherché à enrichir en « substance vagale » un perfusat donné, en le faisant passer plusieurs fois de suite, au cours de périodes successives de faradisation du nerf viscéral, ou dans le même cœur qui l'avait produit, ou dans une série de cœurs fraîchement montés.

Nous n'avons jamais observé d'augmentation de l'effet inotrope positif au-delà du premier passage dans la canule, en utilisant une seule et même préparation.

En faisant passer un même perfusat dans plusieurs cœurs l'enrichissement est sensible, mais la perte de liquide qui a lieu inévitablement au cours du transfert du liquide d'un cœur à l'autre, limite le nombre d'opérations possibles, surtout si l'on cherche à utiliser le plus petit volume de liquide possible.

d) *Caractères du liquide vagal de l'Escargot*

Jusqu'à présent, nous utilisions les perfusats immédiatement après leur prélèvement. Cependant, l'expérience nous mortra que ces perfusats étaient particulièrement stables. Maintenus à la température du laboratoire (18 - 20° C) les liquides récoltés conservent leur activité inotrope pendant des mois.

L'ébullition ne détruit pas les principes actifs, non plus que la dessication suivie d'un chauffage modéré.

Sur le résidu sec, le lavage à l'alcool entraîne la substance inotrope positive tandis que l'éther laisse inchangées ses propriétés.

Nous n'avons pas recherché l'influence du pH sur cette substance, mais d'ores et déjà il est possible de signaler une parenté entre le « *Vagusstoff* » de l'Escargot et celui de la Grenouille, étudié, au point de vue chimique par WITANOWSKI, W.R. (**268**).

Un perfusat actif, chargé de substance inotrope positive, ne perd pas ses propriétés lorsqu'il est placé dans un cœur frais, non « épuisé ».

Par contre, s'il reste dans la canule du cœur donneur, ou au contact d'un cœur « épuisé », il perd progressivement ses propriétés inotropes positives.

Contrairement à l'interprétation de LOEWI, O. (**165**) qui voulait voir dans la disparition de l'activité du *Vagusstoff* l'effet de l'intervention d'un ferment hydrolytique, nous avons pu constater qu'il s'agissait d'une réabsorption, par le myocarde, de la substance qu'il avait perdue au cours de la faradisation du nerf. En effet, une nouvelle excitation du nerf viscéral du cœur initialement « épuisé » rend au perfusat toute son activité. S'il y avait eu destruction de la substance inotrope positive, l'activité du perfusat, à la suite de l'excitation, n'aurait pu reparaître, puisque, comme nous l'avons vu, un cœur « épuisé » est incapable d'élaborer de nouvelles quantités de substance inotrope.

Au terme de cette série d'expériences, il ressort que le « *Vagusstoff* » recueilli chez l'Escargot, est remarquablement stable, à l'égal de celui recueilli chez la Grenouille.

Sa disparition d'un perfusat n'est pas due à l'action d'un ferment qui l'hydrolyse, mais à sa réadsorption au niveau du myocarde.

e) *Libération spontanée de substance vagale au cours du fonctionnement automatique du cœur*

L'excitation du nerf viscéral semble avoir pour conséquence de produire une libération, en un temps relativement court, de la substance inotrope positive contenue dans le cœur.

Celle-ci n'existe pas à l'état libre dans le myocarde, car un broyat de l'organe, appliqué sur un cœur témoin préparé, ne produit jamais d'effets comparables à ceux du perfusat.

Il était intéressant de rechercher si, dans les conditions normales, en dehors de toute excitation nerveuse, le cœur ne libérait pas dans le milieu de perfusion une substance identique au « *Vagusstoff* ».

Des cœurs, isolés sur canule de Straub, sont perfusés pendant des temps variables : 15 minutes, 30 minutes, 1 heure et 2 heures, par un faible volume (1,5 - 2 cm^3) de Ringer normal. A la suite de ces délais, chaque perfusat est appliqué sur un cœur témoin « préparé » et son effet enregistré.

Les perfusats de 15 minutes sont sans effets sensibles.

A partir de 30 minutes, on note pour chaque perfusat un effet inotrope positif d'autant plus marqué que le temps de contact avec le myocarde donneur a été prolongé.

Le renouvellement du liquide de perfusion dans la canule des cœurs donneurs permet de recueillir, au bout d'une heure de contact solution-myocarde, des perfusats d'autant moins actifs que la première perfusion avait été de plus longue durée.

Il semble donc bien que le cœur normal, *à condition d'être actif*, libère dans le milieu de perfusion une substance identique à la substance inotrope positive libérée par stimulation du nerf viscéral.

Ce résultat est conforme aux données de WITANOWSKI, W.R. (**268**) qui trouvait que les cœurs normaux de Grenouille laissaient diffuser le « *Vagusstoff* » dans le milieu de perfusion, en dehors de toute excitation du pneumogastrique, en quantité notable, moindre cependant qu'au cours de la faradisation du nerf.

Ces expériences mettent donc en évidence, au niveau du cœur de l'Escargot, la libération d'une substance douée de propriétés inotropes positives, au cours de l'excitation du nerf viscéral. Le cœur isolé est également capable de produire cette substance, au contact d'une solution artificielle de perfusion, mais les délais nécessaires pour l'apparition d'une activité inotrope positive dans le perfusat sont beaucoup plus importants que ceux qui suffisent à le rendre efficace au cours de la faradisation du nerf viscéral. Nous aurons l'occasion de revenir sur les propriétés respectives des perfusats obtenus suivant ces deux techniques et de comparer leur action biologique sur des ventricules d'Escargot pris comme test de leur activité.

f) *Influence de la composition du liquide de perfusion sur la libération de substance vagale.*

Nous avons vu que la perfusion du cœur de l'Escargot par de l'hémolymphe prélevée sur le même animal conservait à l'organe sa réaction normale au cours de la faradisation du nerf viscéral : en particulier, l'effet chronotrope négatif et l'effet tonotrope négatif se retrouvent de façon typique au cours de ce mode de perfusion.

Il était intéressant d'étudier la transmission humorale des influx cardio-inhibiteurs au cours de la perfusion du cœur par l'hémolymphe.

Le montage utilisé est identique à celui employé pour la perfusion du cœur par le Ringer ordinaire.

La présence de l'hémolymphe donne au rythme cardiaque une allure très régulière, plus lente qu'au cours de la perfusion par une solution physiologique artificielle.

La faradisation du nerf viscéral est suivie des effets vagaux habituels. L'échappement se fait par l'apparition de systoles progressivement croissantes en amplitude sur la ligne montante du tonus diastolique. A la levée de l'excitation, les contractions qui se produisent sont sensiblement augmentées dans leur amplitude de façon tout à fait passagère. Le retour à l'amplitude normale est très rapide.

L'hémolymphe qui avait perfusé le cœur pendant l'inhibition cardiaque est prélevée et remplacée par un même volume de liquide identique.

La mise en place dans la canule de l'hémolymphe chargée théoriquement de substance vagale ne produit aucun effet sur l'activité cardiaque. Il n'est possible de déceler sur le cœur ni d'effet chronotrope négatif, qui pourtant était manifeste au cours de la faradisation du nerf viscéral, ni d'effet tonotrope négatif; l'effet

inotrope positif, que l'on observe habituellement au cours de la perfusion par du liquide artificiel, est également inexistant, dans ces nouvelles conditions.

Il semble donc bien que l'apparition de substance vagale dans le perfusat ne constitue qu'un phénomène anormal, qui ne se produit plus au cours de la perfusion du cœur par son milieu naturel.

Il ne peut être question de dilution trop grande de la substance libérée dans ces conditions. Sur un montage de circulation croisée entre deux Escargots, le tube de raccordement entre Escargot donneur et Escargot témoin, ne comportait guère que quelques millimètres cubes de volume, et était rempli par deux systoles du cœur donneur. En dépit de ces conditions favorables, conservant une forte concentration au *Vagusstoff* et permettant un passage rapide du liquide du cœur donneur au cœur témoin, les résultats furent tout aussi négatifs que dans le cas précédent.

En amenant l'hémolymphe à des taux de dilution de plus en plus grands, par addition de liquide de composition A/AT 10 et Na/K 28, on constate que l'effet inotrope positif habituel du liquide vagal n'apparaît que vers le 1/16. Mais dans aucun cas l'effet chronotrope négatif ne fut transportable par voie humorale.

g) *Conclusions*

Nos conclusions, chez l'Escargot, s'accordent donc bien avec celles faites par PLATTNER, F. chez la Grenouille, et de RIJLANT, P. chez le Chat, aux termes desquelles la perfusion du cœur par du sang défibriné ne permet pas de mettre en évidence le passage de substance vagale au cours de l'excitation du nerf cardiaque.

Selon toute vraisemblance, la perfusion du cœur par un milieu artificiel crée des conditions par trop anormales pour cet organe, et sa physiologie est trop différente de celle observée normalement pour que les résultats obtenus en milieu physiologique artificiel puissent être transposés sans réserves chez l'animal normal.

IV. — RÔLE DES IONS SUR LA LIBÉRATION DE SUBSTANCE VAGALE OU DE SUBSTANCE INOTROPE POSITIVE

Nous avons vu qu'au cours de la faradisation du nerf viscéral, la production d'équivalent-acétylcholine était profondément modifiée lorsque le liquide de perfusion renfermait uniquement des ions alcalins ou alcalino-terreux.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'action de ces ions sur la production de substance vagale, au cours de la faradisation du nerf viscéral, et sur l'élaboration de substance inotrope positive par le cœur isolé et monté sur canule de Straub.

a) *Au cours de la faradisation du nerf viscéral*

Les quelques recherches que nous avons effectuées pour préciser l'influence

des ions sur le comportement du ventricule de l'Escargot au cours de la faradisation du nerf viscéral, nous ont permis de préciser les points suivants :

— *le chlorure de sodium*, en solution pure isotonique au Ringer ordinaire, ne semble pas avoir d'action bien sensible sur le comportement du cœur lors de la faradisation du nerf : tout au plus note-t-on une atténuation du clocher, encore que ce phénomène ne semble pas très constant. L'effet inotrope positif, consécutif à la faradisation du nerf, et dont la manifestation semble liée à la présence, dans le perfusat, d'une « substance vagale », semble assez fugitif sinon inexistant en présence de NaCl seul. Aussi, le transport humoral de cet effet est-il peu démontrable dans ces conditions.

— *le chlorure de calcium*. Nous n'avons pas utilisé le chlorure de calcium à l'état pur, mais associé au chlorure de sodium dans des proportions variables, à l'exclusion de tout autre sel, entr'autres de chlorure de potassium.

Pour des teneurs de plus en plus fortes des solutions de perfusion en ion Ca^{++}, l'effet de clocher diminue progressivement. A la limite, des solutions riches en calcium arrêtent le cœur en diastole. La faradisation du nerf ne produit guère qu'une légère montée du tonus diastolique. Lorsque l'excitation est suffisamment prolongée, les contractions spontanées de l'organe réapparaissent sur une fréquence voisine de la fréquence normale (fig. 44, dernière ligne à gauche). Cette action améliorante de la faradisation du nerf ne se prolonge que peu de temps au-delà de la levée de l'excitation. En effet l'amplitude des contractions diminue régulièrement et finalement celles-ci cessent brusquement.

Cette reprise des systoles n'est pas due à une action directe du nerf sur le myocarde mais au passage, dans le liquide de perfusion, d'une substance capable de susciter les contractions spontanées. Le prélèvement du liquide vagal, au moment de la reprise des contractions, et son remplacement par la solution hypercalcique initiale, amène immédiatement l'arrêt du cœur en diastole. S'il s'agissait d'une modification intrinsèque du myocarde, le changement de liquide

---

FIGURE 44. — 1re ligne : Tracé de gauche. Evolution de l'activité d'un cœur monté *in situ* sur canule de Straub, et perfusé par une solution « physiologique », riche en potassium. Temps en 5 minutes. L'arrêt se produit en systolisation.

Tracé de droite. Suite du tracé précédent. On introduit dans le réservoir de la canule, un diffusat de cœur (Dc) ayant fonctionné pendant un certain temps en présence du liquide A/AT = 10 et Na/K = 10. Après un temps de latence relativement court (5 minutes environ) on note une reprise des contractions rapides.

2me ligne. Ventricule en « automatisme secondaire ». L'application d'un diffusat de collier nerveux *Dn* entraîne une augmentation de l'amplitude des contractions et une accélération sensible du rythme.

3me ligne. Effet d'un diffusat de poumon *Dp* sur le cœur en « automatisme secondaire », puis retour au Ringer ordinaire, à droite.

4me ligne. Ventricule perfusé par du Ringer ordinaire. Effet de la faradisation du nerf viscéral. Le perfusat recueilli, appliqué sur le ventricule, après rétablissement des conditions initiales d'amplitude, produit un effet inotrope positif très net.

5me ligne. Application, à un ventricule monté sur canule de Straub, d'une solution sans potassium et riche en calcium (Na/K = ∞ et A/AT = 12,5). L'organe s'arrête en diastole. La faradisation du nerf provoque la reprise des contractions. La propriété cardio-stimulante appartient au perfusat, car son remplacement dans la canule, par la solution initiale, ramène l'arrêt diastolique, tandis que son introduction dans la canule entraîne la reprise des systoles.

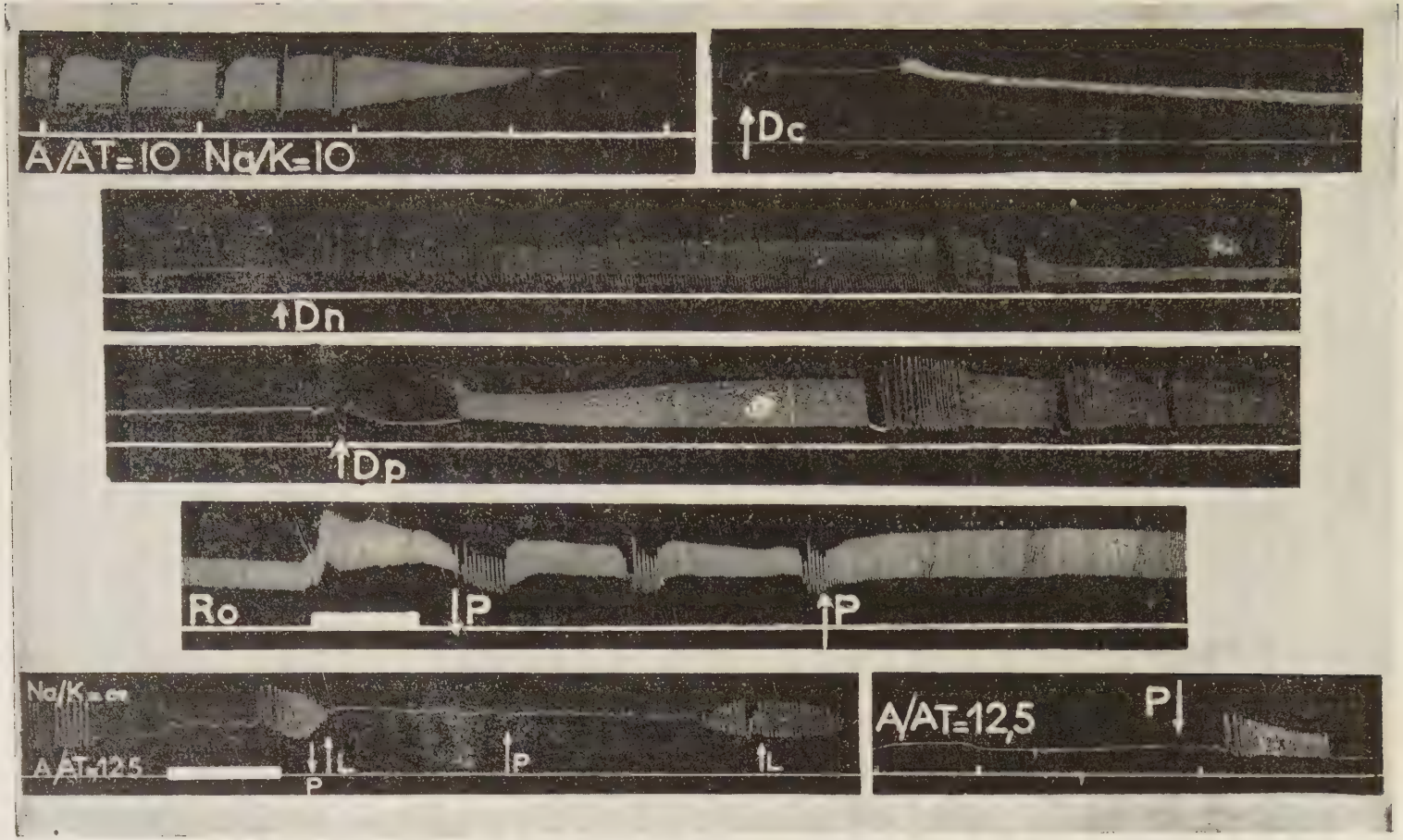

FIGURE 44 (*Voir légende, page en regard*).

resterait sans effets. L'introduction, dans le réservoir de la canule, du perfusat récolté immédiatement après l'excitation provoque la réapparition des contractions spontanées (fig. 44, dernière ligne à droite). Sous l'action du même perfusat, la reprise ne se fait que de façon temporaire : les systoles cessent bientôt et le perfusat à ce moment est devenu totalement inefficace. Il n'y a pas eu accoutumance du cœur à la substance cardio-stimulante, mais disparition de celle-ci du liquide de perfusion.

Il serait évidemment possible d'interpréter l'action du liquide vagal par une éventuelle libération de potassium sous l'influence de la faradisation du nerf viscéral, ceci conformément aux vues de HOWELL, W.H. (**109**). Cette hypothèse est à abandonner car l'analyse des perfusats au moyen du photomètre à flamme montre que l'échange ionique est, d'une part, par son insignifiance, incapable de justifier la reprise des systoles; d'autre part, il est souvent orienté dans des sens différents d'une expérience à l'autre, de sorte qu'il est difficile de l'invoquer pour expliquer la reprise des contractions.

— *le chlorure de potassium.* Ce sel a été utilisé en perfusion, associé au chlorure de sodium. Les effets de l'excitation du nerf viscéral au niveau du cœur semblent exagérés sous l'influence des solutions hyperpotassiques. Le clocher est fortement accusé et souvent il provient d'une systolisation de l'organe. L'effet inotrope positif qui fait suite à ce phénomène est également amplifié de façon notable et les perfusats recueillis dans ces conditions se révèlent particulièrement actifs.

b) *Au cours du fonctionnement automatique du cœur*

Les cœurs isolés et perfusés par des solutions enrichies en calcium ou en potassium donnent des résultats parallèles aux précédents quant à l'activité inotrope des perfusats.

La perfusion du cœur par des solutions riches en calcium ne donne que des perfusats relativement peu actifs, même si les durées de perfusion sont prolongées pendant 24 heures.

Par contre, les solutions hyperpotassiques permettent de recueillir des liquides de pouvoir inotrope positif très marqué et dont l'action est encore très sensible lorsque, au moyen d'une solution de compensation de $CaCl^2$ ajoutée en proportion convenable au perfusat hyperpotassique, on revient à une composition voisine de celle du Ringer.

V. — EVOLUTION DE L'AUTOMATISME DES CŒURS AYANT FOURNI DES LIQUIDES CHARGÉS DE SUBSTANCE INOTROPE POSITIVE OU DE SUBSTANCE VAGALE

Le prélèvement de substance inotrope positive ne se fait pas sans conséquences pour l'activité du cœur en expérience (**133**, **134**). En n'utilisant que des solutions non systolisantes ou des solutions riches en potassium mais renfermant une certaine proportion de sels de calcium (telle que des solutions A/AT = 10 et Na/K = 10) qui permettent le maintien d'un automatisme régulier de l'organe

tant qu'on ne renouvelle pas le liquide contenu dans la canule, nous avons pu mettre en évidence le phénomène suivant.

Appliquées à des cœurs isolés sur canule de Straub, ces solutions hyperpotassiques s'enrichissent en substance inotrope positive dans des délais relativement courts (perfusion de 1 minute par exemple). Leur remplacement, dans la canule, par un volume identique de liquide frais hyperpotassique entraîne immédiatement, au niveau du cœur des modifications de l'amplitude des systoles qui se trouvent réduites par suite d'une montée du tonus diastolique, plus marquée que la montée du tonus systolique. Les contractions cardiaques se stabilisent suivant ces nouvelles modalités d'activité, jusqu'au renouvellement suivant du liquide de perfusion qui provoque à nouveau une diminution de l'amplitude des systoles qui s'inscrivent sur un niveau tonique plus élevé.

La répétition de ces opérations (fig. 44, 1re ligne, à gauche), finit, après 5 ou 6 lavages, par produire l'arrêt de l'organe en systole. Au cours de cette évolution, la fréquence des contractions n'a pratiquement pas varié.

Cet arrêt ne correspond pas à une lésion irréversible du myocarde. En effet, l'introduction (fig. 44, 1re ligne, à droite), dans la canule d'un des perfusats recueillis pendant la période de régression de l'automatisme, produit une diminution progressive du tonus du cœur et sur la ligne descendante de tonus réapparaissent les systoles rapides spontanées dont l'amplitude croît régulièrement jusqu'à une certaine valeur, inférieure à l'amplitude normale.

Cette expérience se répète de façon identique lorsqu'on perfuse le cœur avec du Ringer ordinaire, mais les délais d'apparition de la systolisation sont beaucoup plus longs que ceux nécessaires en présence de liquide hyperpotassique, ce qui fait que le phénomène n'est guère perceptible à moins d'enregistrer à faible vitesse du cylinsdre, l'évolution de l'activité cardiaque. Comme dans le cas précédent, l'introduction, dans la canule d'un liquide resté en contact pendant une trentaine de minutes avec un cœur isolé fonctionnant rythmiquement, produit le retour à un automatisme rapide du ventricule systolisé. Les simples perfusats (Ringer ordinaire) provenant du lavage du cœur en expérience sont trop peu actifs que pour entraîner la réapparition de l'activité cardiaque.

Avec les solutions hypercalciques, l'évolution de l'automatisme ventriculaire se fait beaucoup plus lentement; la survie d'un cœur isolé est prolongée de façon notoire en présence d'un excès de calcium dans le milieu de perfusion **(117)** tandis que les perfusats sont peu, sinon pas du tout actifs.

De ces expériences, il ressort que la répétition des lavages d'un cœur isolé ou monté *in situ* sur une canule de Straub, enlève à l'organe une fraction déterminée, dont la présence dans le cœur conditionne l'extériorisation de l'activité cardiaque rapide.

L'absence de cette substance entraîne l'arrêt en systole du cœur.

Cet arrêt systolique peut être définitif dans quelques cas : le myocarde est atteint par la dessication qui l'empêche de parvenir la seconde phase de son évolution. Le plus souvent, à la systolisation fait suite une reprise de l'activité de l'organe. Celle-ci est caractérisée par des systoles lentes, régulières, à caractère

pendulaire, qui se maintiennent des heures, voire des jours durant. Cette forme d'activité diffère particulièrement de la précédente par sa stabilité : les lavages répétés restent sans action sur elle. Aussi avons-nous proposé de reconnaître au ventricule de l'Escargot deux types d'activité : un *automatisme primaire*, qui se manifeste par des systoles rapides régulières, et un *automatisme secondaire* à systoles lentes, à crêtes arrondies.

La première forme d'automatisme est conditionnée par la présence d'une substance particulière que les précédentes expériences nous ont révélée comme étant douée de propriétés inotropes positives sur des cœurs rendus légèrement hypodynames par quelques lavages.

La seconde forme d'automatisme est un type d'activité primitif, analogue peut-être à l'*automatisme sauvage* de certaines portions du cœur de Vertébrés. Son déterminisme nous échappe pour l'instant mais son allure nous fait penser à une activité du muscle lisse. Aussi nous posons-nous la question de savoir s'il ne s'agit pas d'une activité sarcoplasmique, l'automatisme primaire résultant de la mise en jeu des myofibrilles.

Les perfusats actifs, capables de faire cesser la systolisation d'un cœur épuisé, sont également susceptibles de provoquer le retour à un automatisme primaire d'un cœur en fonctionnement secondaire, même après des délais très longs. Nous avons pu ainsi observer de véritables résurrections de cœurs arrêtés après une période d'automatisme secondaire : les systoles de ces cœurs, que pratiquement l'on pouvait considérer comme morts, redevenaient normales après un temps de contact de quelques minutes avec le perfusat chargé de substance active.

Nous avons appelé cette substance « excito-motrice » en raison de ses propriétés biologiques remarquables, mais il ne fait aucun doute qu'elle est identique à la substance inotrope positive recueillie dans les perfusats de cœurs isolés ayant fonctionné un certain temps en présence du même liquide de perfusion.

A la lumière de ces faits, on comprend pourquoi les perfusats ne sont actifs que sur des cœurs hypodynames et non sur des cœurs fraîchement montés. Ces derniers fonctionnent au maximum de leur amplitude sous l'influence de leur propre substance inotrope. L'action d'un perfusat inotrope positif ne peut se faire sentir que si les systoles se trouvent diminuées par la disparition totale ou partielle de l'équipement « excito-moteur » cardiaque normal.

VI. — Comparaison des effets biologiques de la substance excito-motrice et de la substance vagale

Dans les pages précédentes, nous avions montré que substance vagale et substance inotrope positive étaient identiques. Les expériences qui viennent d'être décrites permettent d'affirmer que « substance vagale » et substance excito-motrice sont identiques (nous continuerons à appeler « substance vagale » celle qui est élaborée au cours de la faradisation du nerfs viscéral, bien que son identification avec la substance excito-motrice semble introduire une contradiction

dans les termes). L'expérience montre qu'il en est bien ainsi. En particulier, au cours de la perfusion des cœurs *in situ* par une solution du type Ringer à rapport A/AT = 10 et Na/K = 10 (donc enrichie en potassium), la faradisation du nerf viscéral accélère l'évolution de l'activité cardiaque vers la systolisation. Alors que par simples lavages, l'arrêt en systole de l'organe se faisait au bout de 5 ou 6 lavages du cœur, avec la faradisation, cet arrêt est obtenu au bout de deux ou trois prélèvements du liquide vagal. En présence de Ringer ordinaire, cette tendance à la systolisation est également accélérée sous la répétition des faradisations du nerf viscéral.

En somme, on peut affirmer que l'excitation du nerf viscéral ne fait qu'accélérer le processus de libération de substance inotrope positive qui a lieu spontanément en présence de liquides physiologiques artificiels.

La reprise de l'automatisme des cœurs systolisés à la suite de la répétition des excitations peut également se faire sous l'influence des simples diffusats recueillis sur des cœurs isolés ayant fonctionné pendant un certain temps en présence du même liquide de perfusion, ce qui peut constituer un argument en faveur de l'identité existant entre « substance vagale » et « substance excito-motrice ».

Ces expériences qui mettent en évidence un enrichissement du perfusat de cœurs isolés par une substance douée de propriétés biologiques particulières ne sont pas sans analogies avec celles de HABERLANDT, L. (**93**), DEMOOR, J. (**58**), ZWAARDEMAKER, J.B. (**275**) établissant l'existence d'une *hormone cardiaque* chez la Grenouille, d'une *substance active* chez le Lapin, ou d'une *automatine*, diffusible dans le milieu de perfusion et capable de susciter une activité rythmique ordonnée sur des lambeaux de cœurs présentant un automatisme sauvage. Même chez *Murex trunculus*, JULLIEN, A. et MORIN, G. (**120**) ont retrouvé un phénomène analogue en laissant le cœur baigner dans de l'eau de mer.

Nous n'avons pas d'arguments expérimentaux à apporter pour expliquer le rôle de cette substance au niveau du cœur. A notre avis, il s'agirait là d'un ferment respiratoire, vraisemblablement comparable aux cytochromes chez les Vertébrés supérieurs.

VII. — SIGNIFICATION DE LA SUBSTANCE EXCITO-MOTRICE

Quant à l'origine de cette substance, il est relativement aisé de la préciser. Au cours de nos expériences de substitution d'un ventricule au cœur entier chez *Helix pomatia* (**132**), nous avons noté que l'organe « greffé », bien que maintenu à l'abri de la dessication, ne survivait pas au-delà de 4 jours après son excision. Pourtant les conditions optimales de perfusion étaient réalisées au cours de ce montage : le ventricule était perfusé par de l'hémolymphe arrivant du poumon, chargée d'oxygène et continuellement épurée de ses déchets par passage au travers du rein.

Dans cette expérience, seul le facteur nerveux avait été éliminé et son rôle semble être particulièrement important, non seulement par ses fonctions régulatrices, mais également par ses fonctions trophiques.

Le myocarde, en effet, est capable de survivre *in vitro*, à basse température, pendant une trentaine de jours, à condition de recevoir, dans le liquide de perfusion, un apport régulier de substance inotrope positive.

Il est légitime de penser que cette substance représente une manifestation de l'activité trophique des nerfs. A cette opinion, nous apporterons comme argument l'expérience de BROWN-SEQUARD (**35**) chez le Lapin. Deux animaux sont mis en expérience. L'un, avant d'être saigné à blanc, subit une faradisation des deux pneumogastriques, tandis que l'autre est saigné sans aucune préparation. La survie du cœur chez ces deux animaux est très différente : tandis qu'elle n'excède pas trois minutes dans le cas du Lapin normal, elle atteint quinze minutes chez le Lapin préparé par faradisation de ses nerfs cardio-inhibiteurs. BROWN-SEQUARD pensait que le pneumogastrique était un nerf anabolique : nous pensons que la faradisation a favorisé la diffusion d'une substance trophique qui, par son excès dans le cœur, permet une survie prolongée.

VIII. — ORIGINE DE LA SUBTANCE EXCITO-MOTRICE

On peut se demander si cette substance existe à l'état libre dans le nerf ou si elle se forme à partir d'un complexe inactif.

Nos expériences ont porté sur les nerfs de l'Escargot. Plusieurs nerfs viscéraux sont prélevés sur la plus grande longueur possible et rapidement broyés dans 2 cm^3 de Ringer, ce qui représente approximativement une dilution égale au 1/100. Le broyat est appliqué par voie interne sur un cœur témoin préparé (épuisé).

L'effet obtenu se traduit de suite par une montée simultanée des tonus systolique et diastolique, très marquée, conférant à l'ensemble de la courbe l'aspect de « clocher » qui s'apparente très étroitement au tracé fourni par un ventricule *in situ*, monté sur canule de Straub et perfusé par voie interne, au cours de l'excitation faradique du nerf viscéral (voir fig. 43).

Ainsi, il est possible de reproduire expérimentalement, sur le cœur isolé, les effets de l'excitation du nerf viscéral au moyen d'extraits aqueux de ce nerf.

Il est à noter cependant, que l'effet obtenu dans cette expérience diffère de celui provoqué par le liquide vagal qui lui, est uniquement inotrope positif.

Les rapports éventuels qui peuvent exister entre les deux produits, également d'origine nerveuse, mis ainsi en évidence, n'apparaissent pas du tout.

On peut supposer qu'au niveau des terminaisons nerveuses intracardiaques, c'est ce même produit qui provoque l'effet de « clocher » si caractéristique de la faradisation du nerf viscéral au niveau du cœur, en agissant sur le myocarde après avoir diffusé des filets nerveux intracardiaques.

Du moment que le nerf renferme sur toute sa longueur le produit en question, deux possibilités sont à envisager : ou bien seules les terminaisons nerveuses laissent passer ce constituant, et dans ce cas, on pourrait parler de « médiateur chimique »;

ou bien le nerf, sur toute sa longueur, laisse également diffuser ce produit, de sorte que l'apparition d'un « clocher » au niveau du cœur ne représenterait qu'une manifestation locale d'un phénomène plus général.

C'est ce que nous avons cherché à préciser dans une deuxième série d'expériences, en opérant sur le nerf isolé.

Le nerf viscéral est prélevé sur la plus grande longueur possible depuis son origine jusqu'aux environs du cœur. L'ensemble représente une masse inférieure en poids à 1 mg. Ce nerf est immergé dans 2 cm^3 de Ringer ordinaire.

Au bout de 2 à 6 heures, ce liquide s'est chargé d'une substance inotrope positive qui, appliquée sur un cœur témoin, entraîne une amplification des contractions.

Un deuxième nerf viscéral, prélevé dans des conditions identiques aux précédentes, repose sur des électrodes excitatrices par une de ses extrémités tandis qu'il plonge dans 2 cm^3 de Ringer ordinaire par le reste de sa longueur. On porte sur ce nerf des excitations faradiques d'intensité assez forte pendant 1 à 2 minutes.

L'application du diffusat sur un cœur témoin montre qu'il s'est rapidement enrichi en substance inotrope positive, tandis que le liquide d'immersion d'un nerf témoin, non excité, resté pendant 2 minutes en contact avec du Ringer ordinaire, est dénué de tout effet.

Qu'il s'agisse du simple diffusat de nerf, recueilli en dehors de toute excitation nerveuse, ou du diffusat de nerf excité, il semble qu'on ait affaire, dans l'un et l'autre cas, à un enrichissement du Ringer en la même substance inotrope positive. L'immersion de longue durée enlève au nerf un constituant qui diffuse beaucoup plus rapidement sous l'effet de la faradisation du nerf.

Dans ces expériences faites sur des nerfs isolés, on retrouve donc bien les effets de l'excitation du nerf au niveau du cœur, tout au moins en ce qui concerne la diffusion de la substance inotrope positive, et il semble permis d'expliquer le passage, dans le liquide de perfusion du cœur, de la substance inotrope positive, par une diffusion de cette substance à partir du réseau nerveux intraventriculaire, perméabilisé par l'état d'excitation.

De prime abord, il ne semble pas y avoir de relation entre l'extrait aqueux nerveux et le diffusat nerveux, l'action biologique, sur le ventricule de l'Escargot, de ces préparations n'ayant, comme point commun, que l'effet inotrope positif.

Cependant, on peut noter que la fraction qui diffuse dans le milieu de perfusion au cours de l'excitation du nerf ne représente qu'une quantité infime par rapport au nerf; cette fraction, avant de se diluer dans le liquide physiologique, est libérée à des taux relativement élevés au niveau du myocarde. Aussi peut-on se demander si le broyat de nerf, appliqué sur le cœur isolé, ne réalise pas, grossièrement, un apport massif de cette substance qui, à faible dilution, exerce un effet inotrope positif. Dans l'affirmative, il serait permis de penser que la substance inotrope positive, décelée dans le perfusat, aurait une origine nerveuse, et que l'effet de « clocher » au niveau du ventricule résulterait de l'action de cette même substance libérée à haute dose au niveau du myocarde.

L'expérience montre qu'il en est bien ainsi. Les broyats de nerf viscéral initiaux (un nerf pour 2 cm^3 de liquide) dilués quatre fois, ne produisent plus sur les cœurs témoins qu'un effet inotrope positif comparable en tous points à celui obtenu au moyen des liquides vagaux habituels.

Par ces expériences, nous sommes inévitablement ramenés à la notion de

médiation des influx cardio-inhibiteurs. En effet, il vient immédiatement à l'esprit d'interpréter l'action du nerf viscéral sur le cœur, par les arguments suivants :

le même produit, libéré à haute dose par le nerf au niveau des fibres myocardiques, agirait tout d'abord en produisant l'effet de « clocher »; puis, en diffusant dans le liquide de perfusion, son action sur le cœur se transformerait en un effet inotrope positif par simple dilution dans le contenu de la canule.

Cela revient donc à dire que la substance libérée par le nerf est responsable des effets cardiaques observés au cours de sa faradisation.

En admettant qu'il en soit ainsi, la spécificité du phénomène serait telle qu'il ne faudrait s'attendre à ne le rencontrer qu'au niveau du cœur et du nerf viscéral. Or, si au lieu du nerf viscéral, on utilise comme matériel d'expérience, un nerf palléal de l'Escargot, les résultats sont identiques à ceux obtenus précédemment. Faut-il donc admettre que les nerfs moteurs agissent également par l'intermédiaire d'un médiateur? Que celui-ci est le même, qu'il s'agisse de la musculature volontaire motrice ou qu'il s'agisse du myocarde, et que son mode d'action soit différent suivant la nature de l'organe sur lequel il est amené?

La notion de médiation chimique implique presque nécessairement, comme corollaire, une destruction, sinon instantanée, tout au moins rapide du médiateur formé, pour éviter sa diffusion d'une part, et pour permettre une action de durée limitée d'autre part. L'action du médiateur est limitée dans le temps et dans l'espace. Or dans le cas présent, ce soi-disant médiateur n'est pas détruit dans les premiers instants de sa formation, puisqu'il arrive à diffuser en quantité suffisante pour pouvoir être décelé dans les perfusats.

Tous les nerfs de l'Escargot renferment **(135)** cette même substance à l'état libre. Il est logique de se demander, si d'autres organes que le cœur ne sont pas également susceptibles de laisser diffuser une substance excito-motrice puisque celle-ci est contenue dans tous les nerfs. C'est ce que vérifie l'expérience.

A condition que l'innervation afférente à l'organe considéré soit suffisamment abondante, la quantité de substance diffusée, douée de propriétés inotropes positives, qui passe dans le liquide d'immersion de l'organe, lui confère des propriétés au moins aussi marquées que celles que nous avons décrites pour les perfusats de cœur. Le poumon en particulier s'est révélé remarquablement riche en cette substance (fig. 44, 3e ligne). L'hépato-pancréas en contient également. Par contre, le muscle pédieux, la glande à albumine en sont dépourvus, ou tout au moins la quantité qu'ils peuvent laisser diffuser dans le liquide physiologique est si faible qu'on ne peut la mettre en évidence par son action sur un cœur témoin.

Le collier nerveux renferme ce produit et le laisse facilement diffuser, ce qui n'est pas pour surprendre, après ce que nous avons dit de la teneur du tissu nerveux.

IX. — Rôle physiologique possible de la substance excito-motrice **(231)**

Quel est le rôle de cette substance? Nous avons laissé entendre précédemment qu'il fallait la concevoir comme un facteur trophique, mais non nutritif. La richesse particulière du poumon en cet élément nous a suggéré une hypothèse que nous

n'avons pas encore pû contrôler, mais qui s'accorde fort bien avec les faits de physiologie générale.

Le produit apporté aux différents organes par les nerfs serait un facteur respiratoire, une sorte de cytochrome, servant d'intermédiaire entre l'oxygène dissous dans le milieu de perfusion et la cellule.

La richesse particulière du poumon en ce facteur respiratoire pourrait se justifier par l'importance des échanges gazeux qui s'effectuent à son niveau, non pas directement entre l'air atmosphérique et l'hémolymphe, mais par l'intermédiaire de la couche liquide qui tapisse l'épithélium pulmonaire et par l'intermédiaire des cellules épithéliales.

Le broyat frais d'organe est inactif sur le cœur témoin; on peut donc penser que ce facteur respiratoire fait partie du myocarde et qu'il existe, absorbé, sous forme réduite.

Lorsque le tissu est resté en contact pendant un certain temps avec le milieu de perfusion, celui-ci s'enrichit en ce facteur qui, en présence de l'oxygène dissous, ne peut exister que sous forme oxydée dans le perfusat.

Sur l'animal vivant, il n'y a guère de raison pour que cette substance se solubilise dans le liquide sanguin, puisque les pigments respiratoires amènent l'oxygène au contact de la cellule même; si la forme oxydée est seule soluble, sa transformation doit être assez rapide pour que la déperdition de l'organe en facteur respiratoire soit minime (1).

L'épuisement du cœur en cette substance respiratoire par les solutions physiologiques amène l'arrêt de l'organe en systole. Cette systolisation présente des analogies étroites avec celle obtenue au moyen de l'ion potassium. D'autre part, les solutions riches en potassium augmentent la vitesse d'apparition de la systolisation par lavage de l'organe. Aussi nous sommes-nous demandé quelle pourrait être l'influence des ions sur cette substance.

Considérons l'équation d'équilibre de la substance respiratoire au niveau du cœur

substance réduite et absorbée sur la cellule $\rightleftarrows$ (1) (2) $\rightleftarrows$ substance oxydée et dissoute dans le perfusat

Il apparaît que l'épuisement du cœur, aboutissant à la systolisation, correspond à la transformation 1.

Il est donc permis de se demander, dans ces conditions, si la systolisation du cœur correspond à une action primaire de l'ion K^+ de la solution, ou au contraire, si la systolisation normalement observée en présence d'un ion K^+ ne résulte pas précisément d'une solubilisation de la substance réduite, ou tout au moins d'une inhibition de la transformation 2.

Par contre, nous avons vu que des solutions riches en calcium ne s'enrichissaient pas en substance inotrope. Il est tout à fait plausible de penser que l'ion

(1) Cette déperdition existe cependant, puisque le cœur en dérivation sur le circuit de l'hémolymphe, mais sans relations nerveuses, perd son activité aussi rapidement que le cœur isolé, perfusé par une solution physiologique.

calcium bloque la réaction en maintenant la substance respiratoire absorbée sur la cellule à l'état réduit.

Dans l'un et l'autre cas, le cœur s'arrête parce que ses processus respiratoires sont suspendus; l'excès de potassium enlève à la cellule tout son équipement respiratoire qui passe dans la solution; l'excès de calcium au contraire empêche la solubilisation, et par suite l'oxydation de la substance respiratoire dans le milieu de perfusion.

La vérification expérimentale de cette hypothèse est particulièrement aisée dans le cas d'un excès de calcium. Dans ces conditions, si on apporte au myocarde une certaine quantité de substance respiratoire diluée dans une solution riche en calcium, l'action de cet ion ne doit pas se faire sentir, puisque la respiration est toujours possible, la réduction de la substance oxydée par la cellule n'étant pas empêchée, théoriquement, par l'ion Ca^{++}.

On constitue donc un diffusat de poumon dans du Ringer ordinaire dont on vérifie l'efficacité sur un cœur qui ne servira pas aux essais ultérieurs.

A 1 cm^3 de ce diffusat, on ajoute 0,5 cm^3 d'une solution de $CaCl^2$ isotonique au Ringer.

Parallèlement, à 1 cm^3 de Ringer ordinaire, on ajoute une même quantité de la solution calcique.

Dans l'un et l'autre cas, le rapport A/AT est voisin de 2 ce qui correspond à des solutions fortement diastolisantes.

Sur un cœur monté sur canule de Straub et fonctionnant régulièrement, l'introduction du Ringer hypercalcique entraîne l'arrêt diastolique prévu. La reprise des contractions ne se fait que par retour au Ringer ordinaire.

Par contre, l'application du diffusat hypercalcique ne modifie pas du tout les contractions de l'organe; bien au contraire, elles se trouvent notablement amplifiées sous l'effet de cette solution.

Nous avons cité plus haut l'expérience d'excitation du nerf viscéral au cours de la perfusion par une solution hypercalcique, les contractions du cœur reprenaient spontanément sous l'influence de la faradisation du nerf (voir fig. 44, 5e ligne) et cette reprise était due au passage, dans le milieu de perfusion, de la substance inotrope positive qui semble donc bien être une substance respiratoire.

Comme dans les expériences d'excitation du nerf, il est possible de montrer par des mesures au photomètre de flamme, que le poumon ne laisse pas diffuser d'ions K^+ en quantités telles que l'on pourrait expliquer l'action du perfusat hypercalcique par un rétablissement ionique de la solution par adjonction de potassium.

L'influence du potassium, sur la transformation de la substance respiratoire, est plus difficile à mettre en évidence.

L'expérience montre que le passage substance oxydée - substance réduite est rendu impossible en présence de l'ion K^+.

Sur un cœur épuisé par lavage répété de sa face interne, les diffusats de poumon dans du Ringer ordinaire font reparaître les contractions. L'adjonction de potassium à ces diffusats lève progressivement leur action favorable et finale-

ment, les cœurs restent systolisés en présence de diffusats suffisamment riches en ion K^+.

Cette action des ions K^+ et Ca^{++} se retrouve d'ailleurs au niveau du poumon; le poumon d'Escargot, immergé dans une solution hypercalcique, abandonne peu, sinon pas de substance inotrope positive, quel que soit le temps de contact entre tissu et solution. Par contre les solutions hyperpotassiques acquièrent rapidement des propriétés cardio-stimulatrices en des temps relativement courts. L'addition des solutions de compensation (pour revenir à la composition du Ringer avant application au cœur témoin de ces perfusats enrichis) n'arrive pas à masquer cette production abondante.

Ces propriétés des ions K^+ et Ca^{++}, observées chez l'Escargot, se rattachent aux propriétés générales de ces ions sur les membranes cellulaires : le potassium solubilise une partie de la membrane tandis que le calcium stabilise celle-ci.

D'après nos expériences, il semble que l'action des ions K^+ et Ca^{++} sur le cœur se traduisant respectivement par une systolisation ou une diastolisation de l'organe, ne résulte pas d'une action primaire de ces ions sur le myocarde, mais de la solubilisation ou du blocage d'une fraction de la membrane participant activement à la respiration tissulaire.

Nous avons vu que la substance inotrope positive que l'on décèle par simple perfusion du cœur, après excitation du nerf viscéral, ou immersion d'un poumon dans le liquide physiologique, se retrouvait à l'état libre dans le nerf viscéral et dans les différents nerfs de l'Escargot.

Nous ne voudrions pas quitter cette question sans signaler quelques expériences qui permettent de penser que cette substance inotrope positive n'est pas spécifique de l'Escargot.

Le liquide vagal recueilli par perfusion d'un cœur de Poisson, se montre chargé d'une substance douée de propriétés inotropes positives sur le cœur d'Escargot isolé.

La perfusion du train postérieur de Grenouille au cours de la faradisation du nerf sciatique donne également un liquide à pouvoir inotrope très marqué. L'élément actif de ces perfusats est bien d'origine nerveuse car l'excitation faradique du nerf sciatique isolé et immergé dans du liquide physiologique donne également un liquide à pouvoir inotrope positif.

X. — Conclusions

Il est possible de mettre en évidence, dans le perfusat d'un cœur d'Escargot soumis à l'action du nerf viscéral, la présence d'une substance qui par ses propriétés biologiques, ne peut guère être homologuée à un médiateur chimique des influx cardio-inhibiteurs. Elle n'apparaît qu'au cours de la perfusion des organes par des milieux physiologiques minéraux : en présence d'hémolymphe, cette élaboration de substance vagale est supprimée. D'autre part, cette substance est également libérée spontanément au cours de la simple perfusion du cœur, sans excitation du nerf viscéral. Elle se trouve préformée dans les différents nerfs de

l'Escargot et l'état d'excitation ne fait que favoriser sa diffusion dans le milieu physiologique baignant les organes considérés. Le poumon qui s'est révélé un organe particulièrement riche en cette substance, amène à penser que celle-ci représente un facteur respiratoire, indispensable à la cellule en ce sens qu'il sert d'intermédiaire entre l'oxygène dissous et le protoplasme. Appliqué sur un cœur témoin, son action dépend de l'état physiologique de ce cœur : s'il est fraîchement monté, donc voisin de son état physiologique normal, la substance respiratoire n'a aucun effet sensible puisque le cœur respire normalement. Mais s'il se trouve partiellement épuisé par suite de la disparition d'une fraction ou de la totalité de son équipement respiratoire (donc en hypoxie) l'apport d'un complément de substance ne peut qu'améliorer son automatisme, amélioration qui se traduit par un effet inotrope positif.

Les ions potassium et calcium exercent leur action sur le myocarde en solubilisant ou en insolubilisant cette substance respiratoire. Théoriquement, l'arrêt en systole ou en diastole du cœur doit s'accompagner d'un arrêt de la respiration. L'introduction, dans une solution hypercalcique, d'une certaine quantité de substance à l'état oxydé empêche l'arrêt classique en diastole obtenu au moyen de cet ion, simplement parce que le cœur peut trouver une source d'oxygène favorable au maintien de son activité normale.

La disparition de la substance respiratoire du cœur se traduit par une systolisation de l'organe.

Le blocage de cette substance au niveau du myocarde entraîne l'arrêt en diastole. Dans ces conditions, l'inhibition cardiaque lors de la faradisation du nerf cardiaque pourrait s'expliquer par un apport massif de substance respiratoire réduite au niveau de la surface du cœur, ce qui équivaudrait, en partie, à une action calcique. A la levée de l'excitation, la substance formée au niveau du myocarde rentre dans le cycle des oxydations et pourrait donc fort bien expliquer la reprise des contractions sur un mode inotrope positif.

Ce phénomène d'inhibition diastolique est manifeste sur des cœurs non distendus et non perfusés; la pénétration de l'oxygène dans la masse myocardique affaissée sur elle-même est suffisamment lente pour laisser dominer l'effet de la substance réduite. Par contre, lorsque le cœur est distendu par une traction mécanique, ou perfusé par une solution physiologique, la substance néoformée est rapidement oxydée et peut rentrer immédiatement dans le cycle respiratoire de l'organe, ce qui expliquerait l'effet inotrope positif de l'excitation du nerf viscéral sur l'automatisme d'un cœur distendu.

Enfin, il semble que dans d'autres groupes d'animaux, de nombreux auteurs aient eu affaire à ce phénomène de diffusion de substance respiratoire, mais l'ont expliqué de façon variable.

Loewi l'interprète comme un médiateur chimique, l'acétylcholine (bien qu'elle n'en ait aucune des propriétés) et ne retient que les expériences favorables à son hypothèse.

Haberlandt, L., Demoor, J. et Rijlant, P. la considèrent comme une hormone cardiaque en raison de ses propriétés cardio-stimulatrices.

En fait, l'apparition de cette substance dans les milieux de perfusion ne

constitue nullement un phénomène spécifiquement cardiaque; d'autres organes sont susceptibles de laisser diffuser le même produit. Que ce soient des organes d'Escargot (poumon, hépatopancréas), de Poisson (cœur, intestin), de Grenouille (cœur, train postérieur de la Grenouille ou nerf sciatique), la substance diffusée semble identique d'un groupe à l'autre par ses propriétés physiologiques sur le cœur de l'Escargot isolé (1).

Les arguments expérimentaux que nous avons apportés, sont tous favorables à une identification de la substance vagale (*Vagusstoff* au sens de LOEWI) avec l'hormone cardiaque d'une part, et avec un facteur trophique respiratoire d'autre part. Des recherches actuellement en cours à l'aide des techniques manométriques de WARBURG nous amèneront peut-être à modifier cette conception qui, jusqu'à présent, permet d'expliquer de nombreux points de la Physiologie cardiaque de l'Escargot.

(1) Des travaux récents (1955) de KNOLL, J., TARDOS, L., KOMLOS, E., KELEMEN, K. et BALAZSI, I (15E bis) étendent ces résultats à la Grenouille et au chien, chez qui les diffusats de foie ont une action cardio-tonique remarquable.

CONCLUSIONS GENERALES

Le cœur de l'Escargot, de structure apparemment simple, se révèle à l'exploration physiologique, comme un organe extrêmement complexe.

La genèse de ses contractions constitue évidemment un problème que nous n'avons pas cherché à aborder.

La coordination des systoles auriculaires et ventriculaires, en l'absence de tout système conducteur auriculo-ventriculaire différencié, a fait l'objet de recherches de nombreux auteurs, et il semble que le mécanisme le plus vraisemblable réside dans les variations de chronaxie du myocarde sous l'influence des tensions exercées par l'étage qui se contracte. L'intégrité du sillon auriculo-ventriculaire n'est pas indispensable à cette bonne coordination : il suffit que le cœur soit soumis à une tension préalablement suffisante pour que chaque systole d'un étage constitue l'excitant efficace dans le déclenchement de l'activité de l'autre étage.

L'intégrité des voies nerveuses afférentes à chaque portion de cœur représente, car contre, une condition indispensable au bon fonctionnement de cette régulation automatique de l'activité cardiaque, vraisemblablement, en coordonnant, à partir des centres supérieurs de l'animal, les chronaxies fondamentales de chaque étage.

En dehors de cette action coordinatrice, le nerf viscéral représente chez l'Escargot, l'équivalent du nerf cardio-modérateur chez les Vertébrés : le pneumogastrique.

Le nerf viscéral aborde le cœur de l'Escargot par ses deux extrémités, sous forme de deux branches distinctes : le nerf auriculaire et le nerf ventriculaire.

Les effets de la faradisation du nerf viscéral sont en tous points comparables à ceux que l'on observe chez les Vertébrés au cours de l'excitation du nerf vague.

L'effet chronotrope négatif est le plus visible.

Il est également possible de distinguer aisément un effet tonotrope négatif dont l'amplitude est fonction de l'intensité de l'excitant et de la saison.

L'analyse pharmacologique des effets vagaux au niveau du cœur de l'Escargot montre qu'il convient d'attribuer l'ensemble de l'action cardio-inhibitrice à deux types de fibres fonctionnellement distinctes : des fibres tonotropes négatives qui vont directement du ganglion viscéral au cœur, et des fibres chronotropes négatives qui présentent un relais ganglionnaire sur leur trajet.

Les autres effets : inotrope et dromotrope négatifs ne sont que les conséquences de ces deux actions fondamentales.

Chaque étage du cœur de l'Escargot ne forme pas une unité morphologique

homogène : sa structure le laisse supposer; l'innervation hétérogène de chaque portion cardiaque le confirme.

C'est ainsi que le ventricule présente deux zones distinctes par leur innervation, zones qui correspondent sensiblement aux deux moitiés transversales de l'étage.

La *pointe* du ventricule reçoit une innervation purement chronotrope négative qui lui arrive par la voie du nerf ventriculaire. L'expérience montre que la pointe constitue effectivement le *primum movens* du ventricule.

La *base* du ventricule, par contre, reçoit une innervation purement tonotrope négative qui lui parvient, d'une part par le nerf ventriculaire, et au travers du myocarde ventriculaire, d'autre part, par le nerf auriculaire, au travers de l'oreillette et du sillon auriculo-ventriculaire.

L'*oreillette* reçoit son innervation uniquement par la voie du nerf auriculaire et cette innervation est mixte, c'est-à-dire chronotrope et tonotrope négative.

En plus de ce système cardio-inhibiteur existe un système cardio-accélérateur représenté par le nerf palléal gauche.

L'action de ce nerf semble purement tonique au niveau du myocarde et être antagoniste des fibres tonotropes négatives. L'efficacité de ces deux systèmes tonotropes dépend étroitement de l'état tonique initial du cœur. Lorsque l'organe est parfaitement relâché, l'excitation des fibres tonotropes négatives est sans effets; par contre les fibres du nerf palléal gauche sont hautement efficaces et leur faradisation entraîne un effet tonotrope positif particulièrement net.

Si le cœur est très tonique, le système palléal gauche est inefficace, alors que les fibres tonotropes négatives du nerf viscéral produisent un relâchement profond de l'organe.

L'état tonique du cœur, en réalité, ne fait que traduire la dominance de l'un ou l'autre système sur l'organe, dominance qui est liée étroitement au rythme des saisons.

En hiver, le système tonotrope négatif l'emporte et produit le relâchement du cœur.

En été, c'est le système tonotrope positif qui est le plus puissant et qui augmente le tonus du cœur.

La prédominance de l'un ou l'autre système est liée à des modifications ioniques de la composition minérale de l'hémolymphe à l'automne (perte de Ca^{++}) et au printemps (gain de Ca^{++}). Il n'est pas impossible que cette influence ionique ne se fasse pas sentir par l'intermédiaire d'un troisième centre supérieur, qui assurerait le balancement entre les actions des deux systèmes cardio-toniques.

Si la genèse des contractions cardiaques représente encore une inconnue en biologie, le mécanisme de la régulation de l'activité cardiaque par l'innervation extrinsèque du cœur a fait l'objet de nombreuses tentatives d'interprétation.

Suivant la dernière en date, celle de Loewi, O., le nerf vague n'agirait pas directement sur le myocarde, mais par l'intermédiaire d'une substance chimique : l'acétylcholine.

Pour qu'il y ait médiation cholinergique dans un groupe d'animaux, trois conditions sont nécessaires : il faut que l'acétylcholine préexiste sous une forme

biologiquement inactive, démasquable par l'action nerveuse ou par des moyens chimiques appropriés; que l'acétylcholine formée soit détruite à mesure de sa formation de façon à empêcher toute surcharge en ce produit et surtout, toute diffusion à partir de son point de formation; enfin, que l'organe qui présente simultanément l'acétylcholine dissimulée et les cholinestérases, soit sensible à l'acétylcholine pure.

Ces conditions sont réunies chez l'Escargot.

Mais s'il est possible de mettre en évidence une production d'acétylcholine par le cœur d'Escargot, celle-ci n'est pas du tout liée à l'inhibition de l'organe, comme le voudrait la théorie de LOEWI, O., mais à son activité, dont elle accompagne les variations.

Par ailleurs, le test mis à la disposition du biologiste pour déceler l'acétylcholine dans les tissus animaux n'est peut-être pas aussi spécifique qu'on veut en général bien l'admettre. Le muscle dorsal ésériné de la Sangsue est sensible à de nombreux composés organiques ou minéraux. Aussi convient-il de faire toutes réserves sur la nature réelle du produit qualifié « acétylcholine » dans nos recherches. D'ailleurs, les arguments invoqués par LOEWI, O. pour identifier son *Vagusstoff* à l'acétylcholine sont également bien fragiles, et ne semblent guère reposer que sur l'antagonisme de l'atropine vis-à-vis de l'action du pneumogastrique, d'une part, et de celle de l'acétylcholine d'autre part.

Comme chez la Grenouille, la faradisation du nerf viscéral chez l'Escargot entraîne le passage, dans le milieu de perfusion de l'organe, d'une substance biologique, inactive sur le muscle de Sangsue, mais particulièrement efficace sur le cœur de l'Escargot pris comme témoin. Son action se traduit par un effet inotrope positif très marqué. Cette action est d'autant plus accentuée que le cœur a subi un contact prolongé avec le milieu de perfusion.

Le cœur isolé, battant spontanément en présence de Ringer ordinaire, laisse également diffuser une substance vers le milieu de perfusion, et celle-ci est douée des mêmes propriétés biologiques que la substance vagale, ce qui nous conduit à admettre l'identité de ces deux substances.

Cette production de substance inotrope positive ou vagale n'a pas lieu en présence d'hémolymphe. Dans l'un et l'autre cas, la perte de substance vagale ou inotrope positive par le cœur soumis à l'action vagale ou fonctionnant isolément, entraîne sa systolisation. Cette systolisation se trouve accélérée par les solutions riches en ions K^+, tandis que les ions Ca^{++} la retardent.

De même, les solutions riches en K^+ sont les plus aptes à s'enrichir en substance inotrope positive, tandis que les solutions hypercalciques, au contraire, employées comme milieu de perfusion, s'avèrent toujours très pauvres en ce même produit.

Tout semble se passer comme si les ions K^+ favorisaient le départ de cette substance favorable au bon fonctionnement du cœur, tandis que les ions Ca^{++} la fixaient sur son substrat cardiaque.

Nous avons admis que cette substance inotrope positive était un ferment respiratoire, servant d'intermédiaire entre l'oxygène dissous dans la solution de perfusion et la cellule cardiaque.

Le cœur n'est pas le seul organe à pouvoir produire cette substance : l'hépatopancréas, le poumon la laissent diffuser lentement. Le tissu nerveux (et pas seulement le nerf viscéral) en renferme à l'état pur, en grande quantité, ce qui confère à la libération de substance inotrope positive par le cœur, un caractère particulier du phénomène bien plus général de neurosécrétion au niveau de tous les organes.

Au terme de toutes ces recherches, nous pensons avoir pu préciser quelques points d'anatomie, relative à la répartition du nerf viscéral dans le cœur de l'Escargot, et quelques aspects de la physiologie de l'innervation extrinsèque du cœur.

En ce qui concerne le mécanisme d'action du nerf cardio-inhibiteur, nos résultats, qui sont d'ailleurs aisément transposables à la Grenouille, ne s'accordent pas du tout avec l'hypothèse de LOEWI, O. Si la libération d'une substance biologique dans le milieu de perfusion est incontestable, comme l'établissent d'ailleurs les recherches de LOEWI, O., celle-ci ne correspond pas du tout à un médiateur, mais à une substance d'origine nerveuse jouant le rôle d'un neurosécrétat, à fonction très vraisemblablement respiratoire.

De sorte que nous pensons que l'étude des processus d'inhibition cardiaque est à reprendre dans sa totalité, à partir des résultats acquis avant l'éclosion de la théorie des médiateurs chimiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. — Abdon, N.O. (1945) — On the metabolism of acetylcholin precursor in isolated hearts. *Acta pharmacol. toxicol.*, **1**, 169.
2. — Abdon, N.O. et Borglin, N.E (1945) — Effect of vagal stimulation on the acetylcholin precursor in rabbits hearts. *Acta pharmacol. toxicol.*, **1**, 162.
3. — Abdon, N.O. et Hammarskjöld, S.O. (1944) — Is any free acetylcholin proformed in resting muscles or in the heart. *Acta physiol. scand.*, **8**, 75.
4. — Alles, G.H. et Hawes, R.C. (1940) — Cholinesterases in the blood of men. *J. Biol. Chem.*, **133**, 375.
5. — Anderson, H.K. (1906) — The paralysis of involuntary muscle. Part III. On the action of pilocarpine, physostigmine and atropine upon the paralysed iris. *J. Pysiol.*, **33**, 414.
6. — Antoine M. (1927) — Sur la théorie du mécanisme humoral de l'action nerveuse. *Thèse médecine*, Nancy 1927.
7. — Antop, W., Glaubach, S. et Glick, D. (1939) — Activité de la cholinestérase dans différentes parties du cœur du Lapin. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, **42**, 280.
8. — Arragon, G. et Sala, E. (1948) — Recherches sur la cholinestérase. I. Calcul nouveau d'activités enzymatique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **30**, 44.
9. — Asher, L. (1904) — Beiträge zur Physiologie der Herznerven. *Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med.*, **21**, 298.
10 — Asher, L. (1923) — Studien über antagonistischen Nerven. 22. Prüfung der angeblichen humoralen Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Z. Biol.*, **98**, 331.
11. — Asher, L. (1924) — Beiträge zum Mechanismus der Wirkung des Nervus Vagus. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **205**, 123.
12. — Atzler, E. et Muller, E. (1925) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **207**, 1.
13. — Bacq, Z. M. (1935) — L'acétylcholine dans les tissus des Invertébrés. *C. R. Soc. Biol.*, **120**, 243.
14. — Bacq, Z. M. (1935) — Les esters de la choline dans les extraits des tissus des Invertébrés. *Arch. internation. Physiol.*, **42**, 24.
15. — Bacq, Z. M. (1935) — La transmission chimique des influx dans le système nerveux autonome. *Ergbn. Physiol.*, **37**, 82.
16. — Bacq, Z. M. (1937) — Nouvelles observations sur l'acétylcholine et la cholinestérase chez les Invertébrés. *Arch. internation. Physiol.*, **44**, 174.
17. — Bacq, Z. M. et Coppée, G. (1937) — Réactions des Vers et des Mollusques à l'ésérine. Existence de nerfs cholinergiques chez les Vers. *Arch. internation. Physiol.*, **45**, 310.
18. — Bacq, Z. M. et Mazza, F. P. (1935) — Isolement de chloro-aurate d'acétylcholine à partir d'un extrait de cellules nerveuses d'*Octopus vulgaris*. *Arch. internation. Physiol.*, **42**, 43.
19. — Bayer, G. et Wenser, T. (1936) — Die Beeinflüssung der Acetylcholinwirkung durch Histamin. *Arch. exper. Path. Pharm.*, **182**, 533.

20. — Bethe, A. (1926) — Vergleichende Physiologie der Blutbewegung. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, **7**, Julius Springer, Berlin.
21. — Biedermann, W. (1884) — Ueber das Herz von *Helix pomatia Sitzber. d. Wiener Akad. d. Wiss., Math.-naturw. Kl.*, **89** (3), 21.
22. — Binet, L. et Perles, L. (1929) — Etude du cœur de l'Escargot isolé de l'organisme. *Presse méd.*, p. 1141.
23. — Blanc, H., Jullien, A. et Morin, G. (1931) — Influence de la section et de la tension sur l'automatisme des cavités cardiaques chez *Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, **108**, 889.
24. — Blanc, H., Jullien, A. et Morin, G. (1952) — Recherches sur l'automatisme cardiaque chez *Helix pomatia*. Influence de la tension et de la composition saline sur l'automatisme des lambeaux ventriculaires. *J. Physiol. Path. gén.*, **30**, 604.
25. — Bonnet, A. et Jullien, A. (1940) — Effets de l'excitation du nerf cardiaque sur l'automatisme du cœur chez *Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, **134**, 135.
26. — Botar, J., Afra, D., Moritz, P., Schiffmann, E. et Scholtz, M. (1949) — Note préliminaire sur les cellules végétatives dans le pneumogastrique. *C. R. Ass. Anat.*, **53**, 98.
27. — Bottazzi, F. (1896) — Sur le mécanisme d'action des sels de potassium sur le cœur. Contribution à la doctrine de l'inhibition. *Arch. Physiol. norm. et Path.*, **8**, 882.
28. — Bouckaert, J. (1921) — Etudes sur les relations entre l'ion K+ et l'excitation du nerf pneumogastrique. *Arch. internation. Physiol.*, **17**, 453.
29. — Bovet, D. et Bovet-Nitti, F. (1948) — Structure et activité pharmacodynamique des médicaments du système nerveux végétatif. *S. Karger*, Bâle.
30. — Boyarski, L. L., Tobias, J. M. et Gérard, R. W, (1947) — Nerve conduction after inactivation of cholinesterase. *Proc. soc. exper. Biol. Med.*, **64**, 106.
31. — Brinkmann, R. et Van de Velde, J. (1925) — Humoral Uebertragung der Vaguswirkung beim Kaninchen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **207**, 488.
32. — Briscoe, S. et Burn, J. H. (1954) — The formation of an acetylcholin like substance by the isolated rabbit heart. *J. Physiol.*, **126**, 181.
33. — Bronn, H. G. (1862-66) — Die Klassen und Ordnungen der Weichtieren. 3. Malacozoa. I. Malacozoa Acephala. II. Malacozoa Cephalophora, fortgesetzt von Keferstein, W.
34. — Brown, G. L. et Feldberg, W. (1935) — Effects of potassium chloride on a sympathetic ganglion. *J. Physiol.*, **84**, 12 P.
35. — Brown-Sequard, H. (1880) — De l'accroissement de l'activité du cœur après qu'il a été soumis à une inhibition complète. *C. R. Soc. Biol.*, **2**, 211.
36. — Brücke, E. Th. von (1925) — Die Bewegung der Körpersäfte. *Handbuch der vergleichenden Physiologie. I. Körpersäfte, Atmung, G. Fischer*, Iena.
37. — Brücke, F. et Werner, G. (1947) — Quantitative Versuche über die Azetylcholinproduktion des Kaltblutenherzens. *Wien. Z. inn. Med. Grenzgeb.*, **28**, 199.
38. — Burridge, W. (1917) — On the localisation of the calcium and potassium salts concerned in the mediation of the action of the vagus nerve on the heart of the frog. *J. Physiol.*, **51**, 45.
39. — Busquet, H. et Pachon, V. (1907) — Sur le mécanisme musculaire de l'action cardio-inhibitrice des sels de potassium. *C. R. Soc. Biol.*, **62**, 785.
40. — Busquet, H. et Pachon, V. (1907) — Sur la grandeur comparée de l'action cardio-inhibitrice de divers sels de potassium administrés à même concentration moléculaire. *C. R. Ac. Sc.*, **144**, 1065.
41. — Cardot, H. (1933) — L'automatisme cardiaque d'après les recherches relatives aux Invertébrés. *Ann. Physiol.*, **9**, 585.
42. — Cardot, H. et Arvanitaki, A. (1936) — Activité automatique et variations du tonus. *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 1480.
43. — Cardot, H. et Arvanitaki, A. (1937) — Réactions électro-toniques du myocarde en fonction de son tonus initial. *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 165.
44. — Cardot, H. et Arvanitaki, A. (1937) — Tonus, automatisme et polarisation du tissu myocardique. Expérience sur l'Escargot. *Arch. internation. Physiol.*, **65**, 205.

45. — Cardot, H. et Jullien, A. (1935) — Rapports entre structure et fonction examinés dans un cas particulier : le cœur de l'Escargot. *Ann. Univ. Lyon, Section C.*
46. — Carlson, A. J. (1904-05) — The rhythm produced in the resting heart of Molluscs by the stimulation of the cardio-accelerator nerves. *Amer. J. Physiol.*, **12**, 55.
47. — Carlson, A. J. (1905) — Comparative physiology of the invertebrate heart. Part. III. Physiology of the cardiac nerves in molluscs. *Amer. J. Physiol.*, **14**, 16.
48. — Carlson, A. J. (1905) — The innervation of the Invertebrate heart. *Biol. Bull.*, **8**, 123.
49. — Carlson, A. J. (1906) — Comparative physiology of the Invertebrate heart. V. The heart rhythm under normal and experimental conditions. *Amer J. Physiol.*, **16**, 47.
50 — Chang, H. C. et Gaddum, J. H. (1933) — Choline esters in tissue extracts. *J. Physiol.*, **79**, 255.
51. — Chatin, J. (1880) — Sur les muscles striés des Pectinidés. *C. R. Soc. Biol.*
52. — Chiba, M. (1926) — Ueber den Nachweis der Vagusstoffbildung während der Vagusreizung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **212**, 158.
53. — Corteggiani, E. (1938) — Contribution à l'étude de l'acétylcholine libre et dissimulée sous forme de complexe dans le cerveau. *Thèse Doct. Sciences*, Paris.
54. — Corteggiani, E., Gautrelet, J., Kaswin, A. et Mentzer, C. (1936) — Sur l'existence d'un complexe libérant l'acétylcholine dans les centres nerveux sous l'influence de la chaleur. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 667.
55. — Dale, H. H. (1914) — The action of certain esthers and ethers of choline and their relation to muscarine. *J. Pharmacol.*, **6**, 147.
56. — Dale, H. H. et Feldberg, W. (1934) — The chemical transmission of vagus effects to the stomach. *J. Physiol.*, **81**, 320.
57. — Darwin, F. (1876) — On the structure of the heart of the snail. *J. Anat. Physiol.*, **10**, 506.
58. — Demoor, J. (1924) — Contribution à la physiologie générale du cœur. VI. — Le réglage humoral dans le cœur. Action des substances actives de la région du nœud de l'oreillette droite. *Arch. internation. Physiol.*, **23**, 1.
59. — Divaris, G. A. et Krijgsman, B. J. (1954) — Investigations into the heart function of *Cochlitoma* (= *Achatina*) *zebra*. *Arch. internation. Physiol.*, **62**, 211.
60. — Dixon, W. E. et Brodie, T. G. (1903) — Contributions to the physiology of the lungs. Part. I. The bronchial muscles, their innervation and the action of drugs upon them. *J. Physiol.*, **29**, 97.
61 — Dogiel, J. (1877) — Die Muskeln und Nerven des Herzens bei einigen Mollusken. *Arch. mikr. Anat.*, **14**, 59.
62. — Dubuisson, M. (1930) — Contribution à l'étude de la physiologie du muscle cardiaque des Invertébrés. IV. L'état actuel de nos connaissances sur le rôle de la distension du muscle cardiaque dans l'activité du cœur chez les Invertébrés. *Arch. internation. Physiol.*, **32**, 416.
63. — Dubuisson, M. (1931) — Contributions à l'étude de la Physiologie du muscle cardiaque des Invertébrés. IX. Nouvelles observations sur le rôle de la distension des fibres cardiaques dans l'automatisme. *Arch. internation. Physiol.*, **34**, 194.
64. — Eccles, J. C. (1947) — Acetylcholin and synaptic transmission in the spinal chord. *J. Neurophysiol.*, **10**, 197.
65. — Eichler, W. (1929) — Untersuchungen über das Kreislaufsystem bei den Weichtieren. IV. *Z. vergleich. Physiol.*, **10**, 778.
66. — Eiger, M. (1923) — Les ganglions et les cellules nerveuses sous-endocardiques, leur rôle dans l'automatisme du cœur. *Arch. suisses Neurol. Psychiâtr.*, **13**, 223.
67. — Emmelin, N. et Kahlson, G. (1937) — Ueber Beziehung zwischen Kontraktiongrosse von Kreatin und Acetylcholin. *Skand. Arch. Physiol.*, **77**, 291.
68. — Engelmann, T. W. (1900) — Ueber die wirkungen der Nerven auf das Herz. *Arch. Anat. Physiol., physiol. Abt.*, 315.
69. — Engelmann, T. W. (1902) — Die Unabhängigkeit der inotrope Nervenwirkungen von der Leitungsfähigkeit des Herzens für motorische Reize. *Arch. Anat. Physiol., physiol. Abt.*, p. 103.

70. — Engelmann, T. W. (1903) — *Die deutsche Klinik am Eingang des* 20. Jahrhunderts, **4** (2), 263 (cité d'après Tigerstedt, R.).
71. — Engelmann, T. W. (1897) — Ueber den myogenen Ursprung der Herztätigkeit und über automatische Erregbarkeit als normale Eigenschaft peripherischer Nervenfasern. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **65**, 535.
72. — Feldberg, W. et Krayer (1933) — Das Auftreten eines acetylcholinartigen Stoffes im Herzvenenblut von Warmblütern bei Reizung der Nervi vagi. *Arch. exp. Path.*, **172**, 170.
73. — Fleure, H. J. (1905) — Zur Anatomie und Phylogenie von *Haliotis*. *Jena. Z. Nat. Wissensch.*, **39**, 245.
74. — Fol, H. (1888) — Sur la structure microscopique des muscles des Mollusques. *C. R. Ac. Sc.*, 306.
75. — Fol, H. (1888) — Sur la répartition du tissu musculaire strié chez divers Invertébrés *C. R. Ac. Sc.*, 1178.
76. — Fontaine, T. (1935) — Action sur le muscle de Sangsue de divers poisons musculaires et de différentes substances biologiques. *C. R. Soc. Biol.*, **119**, 1045.
77. — Foster, M. (1872) — Ueber einen besonderen Fall von Hemmungswirkung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **5**, 191.
78. — Foster, M. et Dew-Smith, A. G. (1875) — On the behaviour of the hearts of Molluscs under the influence of electric currents. *Proc. of the Roy. Soc. of London*, **23**, 318.
79. — Foster, M. et Dew-Smith, A. G. (1877) — Die Muskeln und Nerven des Herzens bei einigen Mollusken. *Arch. mikr. Anat.*, **14**, 317.
80. — Fraser (1864) — *Edinburgh. med. J.*, **9**, 36 (cité d'après Bovet et Bovet-Nitti).
81. — Frédericq, H. (1924) — Action de la distension mécanique des fibres du myocarde et des muscles striés sur leur chronaxie. *Arch. internation. Physiol.*, **23**, 174.
82. — Frédericq, L. (1929) — Rythme cardiaque et pression intracavitaire. *Arch. internation. Physiol.*, **31**, 333.
83. — Froehlich, A. et Pick, E. P. (1920) — Ueber Veränderung der Wirkung von Herzgiften durch Physostigmin. *Z. exp. Med.*, **11**, 89.
84. — Fuehner, H. (1918) — Untersuchungen über den Synergismus von Giften. Die chemische Erregbarkeitssteigerung glatter Muskulatur. *Arch. exper. Path.*, **82**, 51.
85. — Galehr, O. et Plattner, F. (1927) — Ueber das Schicksal des Azetylcholins im Blute. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **218**, 488.
86. — Gautrelet, J. (1909) — La choline. Son rôle hypotenseur dans l'organisme. Contribution à l'étude des coordinations fonctionnelles. *C. R. Ac. Sc.*, **1**, 995. — *J. Physiol. Path. gén.*, (1909), 227.
87. — Gautrelet, J. (1910) — Contribution à l'étude de la choline dans la série animale. *Congrès intern. de Physiologie, Vienne*, 1910.
88. — Genuit, H. (1941) — Untersuchungen über Azetylcholinfreisetzung am Herzen bei elektrischer und pharmakologischer Vagusreizung. *Arch. exp. Path. Pharmak.*, **198**, 561.
89. — Gérard, R. W. (1946) — Nerve metabolism and function. A critic of the role of acetylcholin. *Ann. New-York Acad. Sci.*, **47**, 575.
90. — Glick, D. (1937) — Properties of choline-esterase in human serum. *Biochem. J.*, **31**, 521.
91. — Gomori, G. (1952) — The histochemistry of esterases. *Intern. Rev. Cytol.*, **1**, 323.
92. — Granit, R. et Bonsdorff, B. von (1927) — Zur Kenntniss der Humoral übertragbarer Herzvaguswirkung. I. Ueber humorale Uebertragbarkeit des Herzvaguswirkung vom Kaninchen auf den Frosch. *Skand. Arch. Physiol.*, **51**, 249.
93. — Haberlandt, L. (1924). — Ueber ein Sinus-Hormon des Froschherzens. *Klin. Wschr.*, 1630.
94. — Haller, B. (1882) — Die Organisation der Chitonen der Adria. *Arch., Zool., Inst. Wien*, **4**, 1.
95. — Haller, B. (1883) — Die Organisation der Chitonen der Adria. *Arch. Zool. Inst. Wien* **5**, 15.
96. — Haller, B. (1886) — Untersuchungen über marine Rhipidoglossen. *Gegenbaur's Jahrbuch*, **9**, 1.

97. Halpern, N. et Corteggiani, E. (1935) — Etude comparative de la destruction de l'acétylcholine par divers organes de Cobaye, de Grenouille et d'Escargot. *C. R. Soc. Biol.*, **119**, 1049.

98. Hancock, A. et Embleton, D. (1852) — On the anatomy of *Doris*. *Philosophical Transactions*, **1**, 207.

99. Hanström, B. (1928) — *Vergleichende Anatomie des Nervensystems der wirbellosen Tieren, unter Berücksichtigung seiner Funktion*. *Julius Springer, Berlin.* —

100. Harnack, E. (1880) — Kleinere Mitteilungen. I. Ueber einige das Physostigmin betreffender pharmakologischen und chemischen Fragen. *Z. exp. Path.*, **12**, 334.

101. Hawkins, R. D. et Mendel, B. (1947) — Selective inhibition of pseudocholinesterase by di-isopropyl-fluoro-phosphonate. *Brit. J. Pharmacol. Chemotherap.*, **2**, 173.

102. Hawkins, R. D. et Mendel, B. (1946) — True cholinesterase with pronounced resistance to eserine. *J. cell. comp. Physiol.*, **27**, 69.

103. Hemmeter, J. C. (1914) — Vagushemmung und die anorganischen Salze des Herzens. *Biochem. Z.*, **63**, 118.

104. Hering, H. E. (1905) — Nachweiss dass das His'sche Uebergangsbündel Vorhof und Kammer des Saugetierherzens funktionel verbindet. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **108**, 267.

105. Hestrin, S. (1949) — The reaction of acetylcholin and other carboxylic acid derivates with hydroxylamine, and its analytical application. *J. Biol. Chem.*, **180**, 249.

106. Hofmann, F. B. (1917) — Die prä-und post-ganglionären Fasern der regulatorischen Herznerven und die Bedeutung der Herzganglien. *Z. Biol.*, **67**, 404.

107. Hofmeister, F. (1889) — Beiträge zur Lehre vom Kreislauf der Kaltblüter. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **44**, 360.

108. Howell, W. H. (1901) — An Analysis of the influence of the sodium, potassium and calcium salts of the blood on the automatic contractions of heart muscle. *Amer. J. Physiol.*, **6**, 181.

109. Howell, W. H. (1905-06) — Vagus inhibition of the heart in its relation to the inorganic salts of the blood. *Amer. J. Physiol.*, **15**, 280.

110. Howell, W. H. et Duke, W. W. (1908) — The effect of vagus inhibition on the output of potassium from the heart. *Amer. J. Physiol.*, **21**, 51.

111. Hunt, R. et Taveau, R. de (1906) — On the physiological action of certain choline derivates and new method for detecting choline. *Brit. Med. J.*, **2**, 1788.

112. Jacobi, C. (1892) — Beiträge zur physiologischen und pharmakologischen Kentniss der Darmbewegungen mit besonderer Berücksichtigung der Beziehung der Nebenniere zu denselben. *Arch. exp. Path.*, **29**, 971.

113. Joffe (1931). — Action des produits de métabolisme du cœur sur le travail de cet organe. *Arch. internation. Physiol.*, **34**, 305.

114. Jordan, H. J. (1929) — *Allgemeine vergleichende Physiologie der Tiere. W. de Gruyter, Berlin et Leipzig.*

115. Jullien, A. (1936) — De l'action de certains poisons sur le cœur de l'Huître et des Mollusques en général. *J. Physiol. path. gén.*, **34**, 774.

116. Jullien, A. (1936) — *Des réactions comparées des cœurs de Vertébrés et d'Invertébrés vis-à-vis des électrolytes et des drogues. J. B. Baillière et fils, Paris.*

117. Jullien, A., Cardot, J. et Rerat, D. (1954) — Sur les durées de survie du cœur isolé d'*Helix pomatia* conservé à basse température dans des milieux salins de composition variable. *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 694.

118. Jullien, A. et Morin, G. (1929) — Sur l'automatisme de l'oreillette isolée du cœur d'*Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 77.

119. — Jullien, A. et Morin, G. (1930) — Action comparée de l'atropine et de l'acétylcholine sur le ventricule isolé de l'Escargot et du *Murex*. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 187.

120. Jullien, A. et Morin, G. (1931) — Contribution à l'étude de l'automatisme cardiaque chez les Mollusques. Mise en liberté de substances actives au cours du fonctionnement du cœur chez *Murex trunculus*. *C. R. Soc. Biol.*, **108**, 464.

121. — Jullien, A., Morin, G. et Blanc, H. (1930) — Sur l'automatisme des lambeaux ventriculaires du cœur d'*Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, **104**, 578.

122. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1949) — Sur la production d'acétylcholine par le cœur isolé d'*Helix pomatia*. Ses rapports avec les positions fonctionnelles de l'organe et la composition du milieu de perfusion. *Bull. Soc. Hist. nat. Doubs*, 1949.

123. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1949) — Sur l'enrichissement du myocarde d'*Helix pomatia* en acétylcholine au cours du fonctionnement du cœur isolé et perfusé. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 505.

124. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1949) — Sur la production d'acétylcholine par le cœur isolé d'*Helix pomatia* en dehors de toute excitation nerveuse. *J. de Physiol.*, **41**, 196 A.

125. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1949) — Libération d'acétylcholine par excitation du nerf cardiaque chez *Helix pomatia*. *C. R. Ac. Sc.*, **229**, 243.

126. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1949) — Les excitations faibles du nerf cardiaque d'*Helix pomatia* produisent de l'acétylcholine sans modifications apparentes du rythme cardiaque. *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 544.

127. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1950) — Chez les Poissons et les Mollusques, les nerfs vagues ou de type vagal sont formés de plusieurs nerfs élémentaires, à fonctions distinctes. *J. de Physiol.*, **42**, 615.

128. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1950) — Le temps perdu dans la réponse du cœur à l'excitation du nerf vague chez les Poissons d'eau douce. *Bull. Soc. Hist nat. Doubs*, 1950, 1-8.

129. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1950) — Sur l'existence de fibres spécifiquement tonotropes, non cholinergiques, dans le tronc du nerf cardiaque d'*Helix pomatia*. *C. R. Ac. Sc.*, **230**, 467.

130. — Jullien, A. et Ripplinger, J. (1953) — Sur les corrélations fonctionnelles existant entre les systèmes respiratoire et circulatoire chez l'Escargot (*Helix pomatia*). *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 830.

131. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Cardot, J. (1953) — Perturbations de l'automatisme des cœurs d'*Helix pomatia* en transplantation hétéroplastique sur des Vertébrés hétérothermes et action subséquente des liquides physiologiques. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 1385.

132. — Jullien, A., Ripplinger, J., Guyon, M. et Cardot, J. (1952) — Influence des cardiectomies partielles ou subtotales sur l'automatisme des parties restantes du cœur chez *Helix pomatia;* substitution d'un ventricule au cœur entier. *J. de Physiol.*, **44**, 271.

133. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Joly, M. (1955) — L'automatisme du cœur de l'Escargot (*Helix pomatia*) est conditionné par la présence de substances excito-motrices : leur rôle physiologique. *C. R. Ac. Sc.*, **240**, 911.

134. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Joly, M. (1955) — Influence de la composition des solutions de perfusion sur l'évolution de l'automatisme ventriculaire en fonction du temps chez *Helix pomatia*. Mise en évidence de substances excito-motrices cardiaques. *J. de Physiol.*, **47**, 200.

135. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Joly, M. (1955) — Etude comparative des effets sur le cœur d'*Helix pomatia*, des extraits et des diffusats de nerf viscéral. *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 964.

136. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Mercier, J. (1953) — Nouvelles observations sur la production d'une substance équivalente à l'acétylcholine par le cœur d'*Helix pomatia*, en fonction de la tension de l'organe et de la concentration du milieu de perfusion. *J. de Physiol.*, **45**, 140.

137. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Mercier, J. (1953) — Libération de substances à effet Sangsue, par les cœurs d'*Helix pomatia* actifs et inactifs maintenus à basse température. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 1382.

138. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Mercier, J. (1953) — Influence quantitative de la variation du rapport Na/K dans le milieu de perfusion sur la production d'une substance équivalente à l'acétylcholine par le cœur isolé d'*Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 1810.

139. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Mercier, J. (1954) — Elaboration d'une substance à effet Sangsue par le cœur isolé d'*Helix pomatia* en état d'activité variable et en fonction de la durée, de la température et de la valeur du rapport Na/K de la solution de perfusion. *J. de Physiol.*, **46**, 394.

140. — Jullien, A., Ripplinger, J. et Mercier, J. (1954). Sur la formation et la diffusion d'une substance équivalente à l'acétylcholine par le cœur isolé d'*Helix pomatia*, en fonction de la composition et de la concentration du milieu de perfusion, de la durée, de la température et de l'état d'activité ou de repos de l'organe. *Ann. Scient. Univ. Besançon*, 1954, 2e série, fasc. 1, 91.

141. — Jullien, A. et Vairel-Blanc, H. (1936) — Des rapports entre l'activité automatique des diverses régions du cœur et la structure de l'organe chez l'Escargot. *C. R. Ac. Sc.*, **202**, 1307.

142. — Jullien, A. et Vairel-Blanc, H. (1937) — L'activité automatique cardiaque et la propagation de la contraction en rapport avec la structure du cœur chez *Helix pomatia*. *J. Physiol. Path. gén.*, **35**, 673.

143. — Jullien, A. et Vincent, D. (1940) — Sur la libération d'acétylcoline par le cœur isolé et ses rapports avec l'état fonctionnel de l'organe. *C. R. Soc. Biol.*, **135**, 952.

144. — Jullien, A., Vincent, D., Bouchet, M. et Vuillet, M. (1938) — Sur la diffusion d'acétylcholine à partir du cœur d'*Helix pomatia*. *C. R. Ac. Sc.*, **208**, 460.

145. — Jullien, A., Vincent, D., Bouchet, M. et Vuillet, M. (1938) — Libération d'acétylcholine à partir du myocarde de quelques Mollusques. *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 1134.

146. — Jullien, A., Vincent, D., Bouchet, M. et Vuillet, M. (1938) — Action de divers extraits de cœurs de Mollusques sur le cœur de Grenouille. *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 1495.

147. — Jullien, A., Vincent, D., Vuillet, M. et Bouchet, M. (1939) — Action de mimétiques et de drogues sur le cœur d'*Helix pomatia*. *J. Physiol. Path. gén.*, **37**, 562.

148. — Jullien, A., Vincent, D., Vuillet, M. et Bouchet, M. (1939-40) — Contribution à l'étude de l'automatisme cardiaque chez les Mollusques. II. Action des extraits cardiaques sur le cœur d'*Helix pomatia*. *J. Physiol. Path. gén.*, **37**, 937.

149. — Jung, E. (1881) — De l'innervation du cœur et de l'action des poisons chez les Mollusques lamellibranches. *Arch. Zool. exp. gén.*, **9**, 421.

150. — Kahane, E. (1937) — La choline en biochimie. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **19**, 205.

151. — Kahane, E. et Levy, J. (1936) — Sur la présence, à l'état dissimulé, d'une substance acétylcholinique dans le sang normal. *C. R. Ac. Sc.*, **202**, 1210.

152. — Kahane, E. et Levy, J. (1936). — Inhibition de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le sérum. *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 1596.

153. — Kahane, E. et Levy, J. (1937) — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. Action des muscles de Sangsue et de Grenouille sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **19**, 976.

154. — Kahlson, G. et Uvnas, B. (1935) — Zur Theorie der Sensibilisierung für Acetylcholin, zugleich Bericht über eine erregbarkeits steigernde Wirkung des Fluorids. *Skand. Arch. Physiol.*, **72**, 215.

155. — Kahn, R. H. (1926) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **214**, 482.

155 bis — Knoll, J., Tardos, L., Komlos, E., Kelemen, K. et Balazsi, I. (1955) — Untersuchung kardiotonisch wirkender Gewebestoffe. I. Ueber die kardiotonische Wirkung des Leberperfusates am isolierten Froschherzen.; — II. Herstellung von wirksamen Präparaten und ihre Untersuchung am Froschherzen und Herz-Lungenpräparat von Hund. *Acta physiol. Acad. Scient. Hungaricae*, **8**, 173-208.

156. — Kruta, V. (1936) — Effets de l'excitation des nerfs viscéraux sur l'activité cardiaque chez les Céphalopodes. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 582.

157. — Kruta, V. (1936) — Action de quelques alcaloïdes sur les nerfs cardiaques chez les Céphalopodes. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 585.

158. — Lang, A. (1898) — *Traité d'anatomie comparée et de Zoologie* (traduit de l'allemand par Curtel G.) *Carré et Naud, Paris.*

159. — Lang, A. (1900) — *Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie. W. Engelmann, Leipzig.*

160. — Lebert (1850) — Recherches sur la formation des muscles dans les animaux vertébrés et sur la structure de la fibre musculaire dans les diverses classes d'animaux. *Ann. Sci. Nat.*, 13.

161. — Legendre, R. (1909) — Contribution à l'étude de la cellule nerveuse. La cellule nerveuse d'*Helix pomatia*. *Arch. anat. micr.*, 10.

162. — Lemoine (1868) — Recherche pour servir à l'histoire du système nerveux, musculaire et glandulaire de l'Ecrevisse. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, 9.

163. — Leydig, F. (1850) — Ueber *Paludina vivipara*. *Ztschr. wissensch., Zool.*, **2**, 170.

164. — Loewi, O. (1921) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. I. Mitt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **191**, 239.

165. — Loewi, O. (1922) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. II. Mitt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **193**, 201.

166. — Loewi, O. (1924) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. III. Mitt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **203**, 408.

167. — Loewi, O. (1924) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. IV. Mitt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **204**, 361.

168. — Loewi, O. (1924) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. V. Mitt. Die Uebertragbarkeit der negativ chrono-und dromotropen Vaguswirkung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **204**, 629.

169. — Loewi, O. (1926) — Kritische Bemerkungen zu L. Asher's Mitteilungen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **212**, 695.

170. — Loewi, O. (1937) — Ueber eine wasserunlösslische Zustandeforme des Acetylcholins im Zentralnervensystem. *Naturwissenschaften*, 461.

171. — Loewi, O. (1937) — Ueber ein wasserunlösslische Zustandeforme des Acetylcholins im Zentralnervensystem des Frosches. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **239**, 430.

172. — Loewi, O. et Navratil, E. (1924) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. VI. Mitt. Der Angriffspunkt des Atropins. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **206**, 123.

173. — Loewi, O. et Navratil, E. (1924) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. VII. Mitt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **206**, 135.

174. — Loewi, O. et Navratil, E. (1926) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. X. Mitt. Ueber das Schicksal des Vagusstoffs. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **214**, 678.

175. — Loewi, O. et Navratil, E. (1926) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. XI. Mitt. Ueber den Mechanismus der Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **214**, 689.

176. — Mac Dowall, R. J. S. (1945) — The stimulating action of acetylcholin on the heart. *J. Physiol.*, **103**, 33.

177. — Mac Dowall, R. J. S. (1946) — The stimulating action of acetylcholin on the heart. *J. Physiol.*, **104**, 392.

178. — Malmejac, J. (1928) — *Mécanisme de l'action cardiaque du nerf vague. Etude expérimentale et critique de l'hypothèse de Loewi. Thèse Médecine, Alger. « La Typo-Litho ».*

179. — Marceau, F. (1904-05) — Recherches sur la structure du cœur chez les Mollusques, suivies d'une étude spéciale des cœurs branchiaux et de leurs appendices glandulaires chez les Céphalopodes. *Arch. Anat. micr.*, **7**, 495.

180. — Marsan, G. A. (1946) — Sul sinergismo tra acetylcolina e fisostigmina. *G. Accad. med. Torino*, **109**, 7.

181. — Martin, E. G. (1904) — The inhibitory influence of potassium chloride on the heart, and the effect of variations of temperature upon this inhibition and upon vagus inhibition. *Amer. J. Physiol.*, **11**, 370.

182. — Mendel, B., Mundell, D. et Rudney, H. (1943) — Studies on cholinesterase. III. Specific test for true cholinesterase and pseudo-cholinesterase. *Biochem. J.*, **37**, 473.

183. — Mendel, B., Mundell, D. et Strelitz, F. (1939) — Cholinesterase and electrolytes. *Nature*, **144**, 479.
184. — Mendel, B. et Rudney, H. (1943) — Studies on cholinesterase. I. Cholinesterase and pseudo-cholinesterase. *Biochem J.*, **137**, 59.
185. — Mendel, B. et Rudney, H. (1945) — Some effects of salts on true cholinesterase. *Science, N.-Y.*, **102**, n° 2659, 616.
186. — Milne-Edwards, H. (1849) — Observations et expériences sur la circulation chez les Mollusques. *Mém. de l'Acad. des Sciences, Paris*, **20**, 443.
187. — Mines, G. R. (1914) — Further experiments on the action of the vagus on the electrogram of the frog's heart. *J. Physiol.*, **47**, 419.
188. — Minz, B. (1932) — Pharmakologische Untersuchungen am Blutegelpräparat zugleich eine Methode zum biologischen Nachweis von Acetylcholin bei Anwesenheit anderer pharmakologisch wirksamer körpereigener Stoffe. *Arch. exper. Pathol.*, **167**, 5; ibid, **168**, 292.
189. — Minz, B. (1938) — Sur la libération de la vitamine B^1 par le tronc isolé du nerf pneumogastrique soumis à l'excitation électrique. *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 1251.
190. — Minz, B. (1938) — Le rôle de la vitamine B^1 dans la régulation humorale du système nerveux. *Presse méd.*, 1406.
191. — Minz, B. (1917) — *La transmission chimique de l'influx nerveux. Flammarion, Paris.*
192. — Miquel, O. (1946) — The action of physostigmine, D. F. P. and other parasympathomimetic drugs on the rectus muscle of the frog. *J. Pharmacol. exper. Therap.*, **88**, 67.
193. — Morin, G. et Jullien, A. (1930) — Sur la structure du cœur chez *Murex trunculus*. *Bull. Hist. appl.*, **7**, 79.
194. — Morin, G. et Jullien, A. (1932) — Recherches sur l'automatisme du cœur isolé de *Murex trunculus*. *Arch. internation. Physiol.*, **35**, 143.
195. — Muller, H. (1853) — Bau der Cephalopoden. *Z. wissensch. Zool.*, **4**, 345.
196. — Muralt, A. von (1945) — Vagusstoffe. *Experientia*, **8**, 136.
197. — Muskens, L. J. J. (1900) — *J. Physiol.*, p. 76 (cité d'après Tigerstedt, R.).
198. — Nabias, A. de (1884) — Recherches histologiques et organologiques sur les centres nerveux des Gastéropodes. *Actes de la Société linnéenne de Bordeaux*, 47.
199. — Nachmansohn, D. (1940) — Action des ions sur la cholinestérase. *Nature*, **145**, 513.
200. — Nachmansohn, D., Hestrin, S. et Voripaieff, H. (1949) — Enzymatic synthesis of a compound with acetylcholinelike biological activity. *J. biol. Chem.*, **180**, 875.
201. — Nalepa, A. (1883) — Beiträge zur Anatomie der Stylommatophoren. *Sitzber d. k. Akad. d. Wiss., math.-naturw. Kl.*, **87**, 1° Abt., 237.
202. — Oliveira Frias, C. de (1926) — A propos de l'action humorale du vague cardiaque chez le Chien. *C. R. Soc. Biol.*, **95**, 1291.
203. — Oliveira Frias, C. de (1926) — Sur l'action humorale du vague cardiaque. *C. R. Soc. Biol.*, **95**, 1293.
204. — Perrier, R. (1893) — *Eléments d'anatomie comparée. J. B. Baillière, Paris.*
205. — Perrier, R. (1929) — *Cours élémentaire de Zoologie, Masson, Parris.*
206. — Peruzzi, P. (1946) — L'azione difasica dei mediatori chimici dell'impulso nervoso. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, **22**, 426.
207. — Peruzzi, P. (1946) — Di una nuova ipotesi di lavoro sul mecanismo di azione dei mediatori chimici. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, **22**, 428.
208. — Plattner, F. (1925) — Eine Bestätigung der humoralen Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Z. Biol.*, **83**, 544.
209. — Plattner, F. (1926) — Der Nachweiss des Vagusstoffes beim Säugetier. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **214**, 112.
210. — Plattner, F. et Hinter, H. (1930) — Die Spaltung von Azetylcholin durch Organextrakte und Körperflüssigkeiten. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **225**, 19.
211. — Plenk, H. (1924) — Die Muskelfasern der Schnecken, zugleich eine kritische Studie über die sogennante Schrägstreifung. *Z. wissensch. Zool.*, **122**, 1.

212. — Polumordwinow, D. (1911) — Ueber die Rolle der Nervenzellen des Froschherzens. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **140**, 463.
213. — Pompilian, M. (1900) — Cellules nerveuses du cœur de l'Escargot. *C. R. Soc. Biol.*, **52**, 185.
214. — Popper, M. et Russo, G. (1925) — Recherches expérimentales sur la transmission humorale de l'excitation des nerfs cardiaques. *J. Physiol. Path. gén.*, **23**, 562.
215. — Prenant, A. (1901) — Sur les fibres striées des Invertébrés. *Bibliog. anat.*, **9**, 228.
216. — Prenant, A. (1903) — Sur les fibres striées des Invertébrés. *C. R. Soc. Biol.*, 1041.
217. — Prosser, L. (1940) — Acetylcholin and nervous inhibition in the heart of *Venus mercenaria*. *Biol. Bull.*, **78**, 92.
218. — Prosser, L. (1942) — An analysis of the action of acetylcholine on hearts, particulary in Arthropods. *Biol. Bull.*, **83**, 145.
219. — Quatrefages, M. A. de (1849) — Mémoire sur le genre Taret (*Teredo Lin.*) *Ann. Sc. nat., Zool.*, **3**, série II, p. 19.
220. — Raffo, L. F. (1929) — Azione di alcune condizioni fisiche sulla funzionalita cardiaca dei Gasteropodi. *Pathologica*, **21**, 225.
221. — Ranson, W. B. (1884) — On the cardiac rhythm of Invertebrates. *J. Physiol.*, **5**, 261.
222. — Richter, D. et Croft, P. G. (1942) — Blood esterases. *Biochem. J.*, **36**, 746.
223. — Rijlant, P. (1926) — Le tout ou rien du cœur. *C. R. Soc. Biol.*, **95**, 224.
224. — Rijlant, P. (1927) — La transmission humorale de l'action des nerfs cardiaques de Loewi chez le Mammifère. *C. R. Soc. Biol.*, **96**, 1054.
225. — Riker, W. F. et Wescoe, W. C. (1946) — The direct action of prostigmine on skelettal muscles; its relationship to the choline esters. *J. Pharmacol. exper. Therap.*, **88**, 58.
226. — Ripplinger, J. (1952) — Application d'un procédé de double inscription simultanée des contractions sur le ventricule d'*Helix pomatia in situ*. Nouvelles observations au sujet de l'automatisme ventriculaire de l'Escargot. *Bull. Soc. Hist. nat. Doubs*, 1952.
227. — Ripplinger, J. (1952) — Un nouveau procédé de double enregistrement permettant, sur un même organe, l'inscription simultanée de l'activité locale de territoires adjacents. *Bull. Soc. Hist. nat. Doubs*, 1952.
228. — Ripplinger, J. (1952) — Recherches sur le pneumogastrique de la Tanche. Etude du comportement de deux types de fibres, chronotropes et tonotropes, pendant la dégénérescence wallérienne du tronc vagal. *J. Physiol.*, **44**, 316.
229. — Ripplinger, J. (1952) — De l'existence d'un centre d'initiation des contractions rythmiques et d'un système de conduction de l'onde d'excitation au travers du myocarde au niveau du ventricule de *Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 333.
230. — Ripplinger, J. (1953) — Physiologie du cœur de l'Escargot et de son innervation extrinsèque. *Ann. Scient. Univ. Besançon*, **3**, *Zool. et Physiol.*, fasc. 1, 21.
231. — Ripplinger, J. et Joly, M. (1955) — Sur une hypothèse de l'action des ions K et Ca sur l'activité du cœur de l'Escargot (*Helix pomatia*). *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 969.
232. — Ripplinger, J. et Mercier, J (1954) — Recherches quantitatives sur la teneur en équivalent-acétylcholine des diverses portions du myocarde normal d'*Helix pomatia*, et sur ses rapports éventuels avec la nature de l'innervation cardiaque (chronotrope ou tonotrope négative). *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 366.
233. — Ripplinger, J. et Mercier, J. (1934) — Recherches qualitatives sur l'activité cholinestérasique des diverses portions du cœur normal de l'Escargot. (*Helix pomatia*). *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 696.
234. — Ripplinger, J. et Mercier, J. (1934) — Etude de la production d'équivalent-acétylcholine au cours de diverses conditions expérimentales, dans l'intimité du myocarde d'*Helix pomatia*, sous l'influence de l'excitation du nerf viscéral. *Ann. Univ. de Besançon*, **9**, 2° série, *Zool. et Physiol.*, fasc. 1, 133.
235. — Ripplinger, J. et Mercier, J. (1954) — Etude de l'enrichissement, sous l'influence de la faradisation du nerf viscéral, des différentes portions du myocarde d'*Helix pomatia* en équivalent-acétylcholine. Ses relations avec la composition ionique du milieu de perfusion. *J. Physiol.*, **46**, 509.

236. — Runcan, V. (1940) — Cholinester aus isolierten Froschherzen ohne Vagusreizung. *Arch. exper. Path. Pharmak.*, **195**, 516.

237. — Rywosch, D. (1905) — Zur Physiologie des Herzens und des Exkretionsorganes der Heteropoden (Pterotracheen). *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **109**, 355.

238. — Scheinfinkel, N. (1924) — Studien über antagonistische Nerven. 24. Nachweiss der Mobilisierung von Kalium im Herzen durch Reizung des N. vagus. *Z. Biol.*, **82**, 285.

239. — Schwartzkopff, J. (1954) — Ueber die Leistung des isolierten Herzens der Weinbergschnecke (*Helix pomatia* L.) im künstlichen Kreislauf. *Z. vergleich. Physiol.*, **36**, 543.

240. — Spadolini, I. et Giachetti, A. (1953) — Cholinestérase et action motrice de l'acétylcholine sur le myocarde auriculaire. *J. Physiol.*, **45**, 559.

241. — Spengel, J. W. (1881) — Die Geruchsorgane und das Nervensystem der Mollusken. *Z. wissensch. Zool.*, **35**, 333.

242. — Stedmann, E., Stedmann, E et Eason, L. H. (1932) — Cholinesterase. An enzyme present in the blood serum of the horse. *Biochem. J.*, **26**, 2056.

243. — Straub, W. (1902) — Zur Physiologie des Aplysienherzens. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **86**, 504.

244. — Ten Cate, J. (1924) — Sur la question de l'action humorale du nerf vague. *Arch. néerl. Physiol.*, **9**, 588.

245. — Teschendorff (1921) — Beiträge zur Physiologie und Pharmakologie der Blutegelmuskulatur. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **192**, 135.

246. — Tiel, N. van (1940) — Die Regulierung der Herztätigkeit bei *Helix pomatia* durch extrakardiale Nerven und das Zentralnervensystem. *Nederl. Akad. van Wettenschappen. Proc. of sect. of Sciences*, **53**, n° 6-10, 1332.

247. — Tiel, N. van (1942) — Recherches sur la régulation nerveuse du cœur des Gastéropodes. *Arch. néerl. Physiol.*, **26**, 269.

248. — Tigerstedt, R. (1921) — *Die Physiologie des Kreislaufes. W. De Gruyter, Berlin et Leipzig.*

249. — Trendelenburg (1912) — *Arch. exp. Path.*, **69**, 72.

250. — Ungar, M. (1907) — Beiträge zur Kenntnis der Wirkungsweise des Atropins und Physostigmins auf den Dünndarm von Katzen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **119**, 373.

251. — Verne, J. (1954) — La cytochimie des estérases chez les Mammifères. *Ann. Biol.*, **30**, fasc. 3-4, 129.

252. — Vigier, P. (1904) — Structure des fibres musculaires du cœur chez les Mollusques. *C. R. Ac. Sc.*, **138**, 1534.

253. — Vincent, D. (1938) — *L'acétylcholine et son rôle dans l'organisme animal. Thèse. Vigot frères, Paris.*

254. — Vincent, D. et Jullien, A. (1938). — La teneur en acétylcholine du cœur des Mollusques. *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 334.

255. — Vincent, D. et Jullien, A. (1938) — L'activité cholinestérasique des extraits myocardiques chez les Mollusques. *C. R. Soc. Biol.*, **127**, 631.

256. — Vincent, D. et Jullien, A. (1938) — Recherches sur les esters de la choline chez les Mollusques. Esters de la choline du myocarde. Activité cholinestérasique du myocarde et de l'hémolymphe. *J. Physiol. Path. gén.*, **37**, 35.

257. — Vogt, C. et Yung, E. (1888) — *Traité d'anatomie comparée pratique. Reinwald, Paris.*

258. — Volkmann, A. W. (1838) — Von dem Bau und den Verrichtungen der Kopfnerven des Frosches. *Arch. Anat. Physiol.*, p. 70.

259. — Weber, E. H. et Weber, E. (1845) — Experimenta physiologica in theatro anatomico lipsiensi facta a professoribus Eduardo et Ernesto Henrico Weber, fratribus et ab hoc cum viris doctis septimi Congressus italici communicata Neapoli. *Annali universali di medicina*, **116**, 225.

260. — Weber, E. (1846) — *Handwörterbuch der Physiologie*, **3** (2), 42 (cité d'après Tigerstedt, R.).

261. — Wedl, C. (1886) — Ueber Kapillargefässsysteme von Gasteropoden. *Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss.*, Wien, **58**, 2° Abt., 269.

262. — Weissmann, A. (1861) — Ueber die Muskulatur des Herzens beim Menschen und der Tierreiche. *Arch. Anat. Physiol.*

263. — Willems, H. P. A. (1931) — Koordination des Herzens bei *Helix pomatia*. *Nederl. T. Geneeskde*, **2**, 3852.

264. — Willems, H. P. A. (1931) — La coordination de la systole de l'oreillette et du ventricule dans le cœur d'*Helix pomatia*. *Acta brev. neerl. Physiol., Pharmacol. Microbiol.*, **1**, 93.

265. — Willems, H. P. A. (1931) — Ueber die Bedeutung der Dehnung für die Koordination des Helixherzens. *Acta brev. Neerl. Physiol. Pharmacol. Microbiol.*, **2**, n° 1 et 2.

266. — Willems, H. P. A. (1932) — Ueber die Bedeutung der Dehnung für die Koordination des Helixherzens. *Z. vergleich. Physiol.*, **17**, 1.

267. — Winterberg, H. (1907) — Ueber die Wirkung des Physostigmins auf das Warmblüterherz. *Z. exp. Path.*, **4**, 636.

268. — Witanowski, W. R. (1925) — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. VIII. Mitt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **208**, 694.

269. — Wolwekamp, H. P. (1929) — Untersuchungen über das Herz der Weinbergschnecke. *T. nederl. dierkd. Ver.* **1**, 128.

270. — Wybaux (1904-05) — Etude de certaines conditions dans lesquelles le nerf pneumogastrique cesse d'agir sur le cœur. *Arch. internation. Physiol.*, **2**, 198.

271. — Yasutake, T. (1925) — Studien über antagonistischen Nerven. 27. Nachweis der Mobilisierung von Calcium im Herzen durch Reizung des N. accelerans. *Z. Biol.*, **82**, 605.

272. — Zondek, S. G. (1922) — Ueber das Wesen der Vagus und Sympathicusfunktion. *Bioch. Z.*, **132**, 362.

273. — Zubkov, A. A. (1934) — Studies on the comparative physiology of the heart. The pacemaker of the heart of the snail (*Helix pomatia*). *Probl. comp. Physiol., U. S. S. R.*, p. 47.

274. — Zubkov, A. A. (1934) — Materialen zur vergleichenden Physiologie des Herzens. I. Die Anatomie des Herzens der *Helix pomatia*. *Fiziol. Zk. U. S. S. R.*, **17**, 293; — (1935) — *Ber. Wiss. Biol.*, **31**, 666.

275. — Zwaardemaker, J. B. (1926) — Bestralinstoffen en Harthormonen. *Kkl. nederl. Akad. Wetensch., Proc.*, 35 (9).

276. — Zwaardemaker, H. et Lely, J. W. (1916-17) — Les sels et le rayonnement radioactifs modifient la sensibilité du cœur à l'influence du nerf vague. *Arch. néerl. Physiol.*, **1**, 745.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 3

A. — ANATOMIE DU CŒUR DE L'ESCARGOT 7

I. — Historique 7

a) Structure macroscopique du cœur de l'Escargot 7
b) Structure microscopique des fibres cardiaques de l'Escargot 10
c) Innervation intrinsèque — cellules ganglionnaires 11
d) Innervation extrinsèque du cœur de l'Escargot 12

II. — Recherches personnelles sur l'anatomie de l'innervation extrinsèque du cœur de l'Escargot 15

a) Structure de la masse sous-œsophagienne 15
b) Topographie du nerf viscéral 17
1) Technique de mise à nu du nerf 17
2) Description du trajet nerveux 19
3) Topographie des ramifications terminales des branches cardiaques du nerf viscéral 20
c) Structure histologique du myocarde ventriculaire et auriculaire .. 22

B. — PHYSIOLOGIE DU CŒUR D'*Helix pomatia* ISOLÉ ET *in situ* 25

I. — Historique des recherches relatives à l'automatisme du cœur isolé .. 25

a) Influence de la tension axiale sur la genèse des contractions 25
b) La conduction intracardiaque chez l'Escargot 26

II. — Recherches personnelles sur l'automatisme du cœur *in situ* 30

a) Etude de l'accord auriculo-ventriculaire sur le cœur de l'Escargot normal 30
b) Rôle du cœur dans la mobilisation de l'hémolymphe; expériences de cardiectomies 32

1) Techniques utilisées 34
2) Résultats 35
α Suppression de l'oreillette seule 35
β Suppression du ventricule seul 36
γ Suppression du cœur entier 36
c) Rôle des mouvements respiratoires sur la circulation de l'hémolymphe 36

C. — Physiologie de l'innervation extrinsèque du cœur de l'Escargot 40

I. — Historique 40

II. — Recherches personnelles 43
a) Techniques opératoires 43
1) Méthode de suspension 43
2) Méthode de perfusion 43
b) Résultats obtenus sur le cœur suspendu au levier inscripteur .. 45
1) Réponses du cœur normal à la faradisation du nerf viscéral chez l'animal actif 45
2) Types de fibres nerveuses participant, chez l'Escargot, à l'action vagale 46
3) Etude des facteurs susceptibles de modifier la réponse du myocarde à l'excitation du nerf viscéral 54
α Influence de la tension mécanique du myocarde sur sa réponse à l'excitation vagale 54
β Influence de l'intensité de l'excitation sur la réponse du ventricule à la faradisation du nerf viscéral 54
γ Influence de la saison sur les réactions du myocarde de l'Escargot au cours de la faradisation du nerf viscéral 55
— Structure des fibres chronotropes négatives 56
— Etude de l'effet tonotrope positif 58
— Etude de l'effet chronotrope positif 59
δ Influence d'une innervation de type sympathique, représentée par le nerf palléal gauche 59
4) Discussion : antagonisme nerf viscéral - nerf palléal gauche; origine possible de l'effet chronotrope positif 61
5) Conclusions 64
c) Résultats obtenus sur le ventricule perfusé 64
1) Réponse du cœur normal à la faradisation du nerf viscéral chez l'animal d'été 64
2) Déterminisme de cette réponse paradoxale 65
α Etude de l'influence de la distension 65
β Etude de l'influence de la composition du liquide de perfusion 66
3) Conclusions 67

d) Répartition, à l'intérieur du myocarde, des différents types de fibres constituant le nerf viscéral 67
1) Etude des réactions vagales de l'oreillette en liaison physiologique avec le ventricule, et détachée au niveau de sa jonction avec la veine pulmonaire 68
2) Etude des réactions vagales du ventricule, en liaison physiologique avec l'oreillette, et détaché au niveau de son prolongement aortique 69
3) Conclusions 69

e) Etude des réactions des deux moitiés transversales du ventricule, pendant la systole normale et pendant l'inhibition vagale 71
1) Techniques 71
2) Résultats 73
α Etude des contractions ventriculaires normales 73
β Etude des réactions des deux moitiés transversales du ventricule pendant l'excitation vagale 76
— Le ventricule est détaché par section du sillon auriculo-ventriculaire 76
— Le ventricule est détaché par section de son prolongement aortique 79
γ Analyse de l'action cardio-inhibitrice de l'acétylcholine sur le ventricule de l'Escargot 79
3) Conclusions 80

D. — Recherches sur la médiation cholinergique des influx cardio-inhibiteurs chez l'Escargot 82

I. — Historique 82
a) L'acétylcholine et son apparition dans la physiologie 82
b) L'acétylcholine chez les Invertébrés 90
c) L'acétylcholine chez l'Escargot 92
d) Aperçus sur la production spontanée d'acétylcholine dans d'autres groupes d'animaux 94

II. — Recherches personnelles 96
a) Etude de la production d' « équivalent-acétylcholine » par le cœur isolé d'Escargot 97
1) Le cœur est monté sur canule de Straub 97
α Influence de la composition du milieu de perfusion sur l'élaboration de substance à effet-Sangsue 97
β Discussion 98
2) Le cœur, prélevé entre deux ligatures, est perfusé par voie externe 100
α Evolution de la production dans le temps 100
— Cœurs en contraction isotonique 100
— Cœurs en contraction isométrique 101

— Cœurs inactifs 102
β Influence des basses températures sur la production d'équivalent-acétylcholine 103
— Discussion 104
γ Influence quantitative des variations de concentration de la solution physiologique sur la production d'équivalent-acétylcholine 104
δ Influence quantitative de la variation du rapport Na/K du milieu de perfusion 107
— Discussion 109
3) Critique des résultats 112
α Etude du test, le muscle de Sangsue 112
— Sensibilité 112
— Spécificité 112
β Etude de l'action anticholinestérasique de l'ésérine .. 113
4) Conclusions 116
b) Etude de la production d'acétylcholine intracardiaque sous l'effet de la faradisation du nerf viscéral 117
1) Technique 117
2) Résultats 117
3) Discussion 118
α Comparaison des effets de l'acétylcholine et de l'excitation du nerf viscéral sur le cœur de l'Escargot .. 118
β Rôle des excitations sous-liminaires 120
γ Conclusions 120
4) Production « d'acétylcholine » par les différentes portions du cœur de l'Escargot 120
α Technique 121
β Résultats 121
γ Conclusions 122
5) Influence des ions Na, K et Ca sur la libération d'équivalent-acétylcholine à l'intérieur du myocarde au cours de la faradisation du nerf viscéral 123
α Technique 123
β Résultats 123
— Perfusion du cœur avec une solution de NaCl isotonique au Ringer ordinaire 123
— Perfusion du cœur avec une solution de $CaCl_2$ isotonique au Ringer ordinaire 124
— Perfusion du cœur avec une solution de KCl isotonique au Ringer ordinaire 124
γ Discussion : Rôle éventuel des cholinestérases : leur dosage 124
— Activités cholinestérasiques normales des différentes portions du cœur 126
= Techniques 127
= Résultats 127
Influence des ions sur l'activité des cholinestérases cardiaques 128

— Influence de $CaCl_2$ 129
= Influence de NaCl isotonique au Ringer.. 129
= Influence des ions K^+ 132
Discussion 132
δ Conclusions 135

E. — Recherches sur l'éventualité d'une transmission chimique des influx cardio-inhibiteurs chez l'Escargot 136

I. — Technique 137

II. — Résultats 137

III. — Discussion 139

a) Rôle du test dans la mise en évidence de l'action inotrope positive du perfusat 139

b) Nombre de « liquides vagaux » élaborés par un même cœur, au cours de faradisations répétées du nerf viscéral 139

c) Enrichissement de perfusats en substance inotrope positive par passages successifs dans des cœurs donneurs différents 140

d) Caractères du liquide vagal de l'Escargot 140

e) Libération spontanée de substance vagale au cours du fonctionnement automatique du cœur 141

f) Influence de la composition du liquide de perfusion sur la libération de substance vagale 142

g) Conclusions 143

IV. — Rôle des ions sur la libération de substance vagale ou de substance inotrope positive 143

a) Au cours de la faradisation du nerf viscéral 143

b) Au cours du fonctionnement automatique du cœur isolé 146

V. — Evolution de l'automatisme des cœurs ayant fourni des liquides chargés de substance inotrope positive ou de substance vagale 146

VI. — Comparaison des effets biologiques de la substance excito-motrice et de la substance vagale 148

VII. — Signification de la substance excito-motrice 149

VIII. — Origine de la substance excito-motrice 150

IX. — Rôle physiologique possible de la substance excito-motrice 152

X. — Conclusions 155

F. — Conclusions générales 158

Bibliographie 162

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Les phénomènes de cicatrisation chez les Invertébrés et plus particulièrement chez les Céphalopodes

Lu et accepté

Les membres du Jury :

P. P. GRASSE
A. JULLIEN
A. TRONCHET

Vu et approuvé

Le Doyen :

F. CHATELET

Vu et permis d'imprimer

Besançon, le 22 Mars 1957.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université :

G. RICHARD.

IMPRIMERIE
P. CARRÈRE
— RODEZ —